

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Elsa Vanker

## **Värvitud kiudude uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil**

Magistritöö (30 EAP)

Keemia

Juhendajad Teadur Sigrid Selberg, PhD

Prof Ivo Leito, PhD

Tartu 2023

## INFOLEHT

### Värvitud kiudude uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil

Käesolevas töös uuriti mitmeid erinevate värvainetega värvitud villakiudude proove fluorestsentspektromeetria meetodil, et koostada võrdlusproovide kataloog. Töö teiseks eesmärgiks oli erinevate vereva vöödikuga (*Cortinarius sanguineus*) värvitud villakiudude proovide analüüsimine, mille korral oli kiudusid värvides kasutatud erinevaid peitse, et aru saada, kuidas erinevad peitsid võivad mõjutada saadud ergastus- ja emissioonispektreid. Saadud andmetest koostati ergastus- ja emissioonimaatriksid, millelt näeb, kuidas spektri karakteristikus võib muutuda erinevate peitsidega. Kuigi võib näha, kas peitsi kasutamine muudab spektrit, ei saa ainult fluorestsentspektromeetria abil kindlalt öelda, millist peitsi on kasutatud. Tähtis osa töö jooksul oli ka kahelt pärandväärtusega vaibalt saadud proovide analüüsimine ja hiljem nende võrdlemine võrdlusproovidega, et näha kas võrdlusproovide abil on võimalik teada saada, milliste värvainetega on uuritud vaipu värvitud.

Märksõnad: fluorestsentspektromeetria, värvaine, verev vöödik, peits, EEM, LC-MS

### Analysing dyes using fluorescence spectrometry

In the present study, several samples of wool fibers dyed with different dyes were analysed by fluorescence spectrometry in order to compile a directory of reference samples. Another major aim of the work was the analysis of dyed wool fibers which were dyed with blood-red webcap (*Cortinarius sanguineus*), using different mordants, to see how the different mordants can affect the overall appearance of the excitation and emission spectra. From the obtained data, excitation and emission matrices were composed, which show how different mordants change the characteristics of the spectra. It was found that fluorescence spectrometry alone cannot be used to say for certain which mordant was used in dyeing. An important part of the work was analysing different case study samples and later comparing them with the reference samples to see if it is possible to find out which dyes the case study samples could have been dyed with.

Keywords: fluorescence spectrometry, dye, blood-red webcap, mordant, EEM, LC-MS

## SISUKORD

LÜHENDITE LOETELU .....	5
1. SISSEJUHATUS.....	6
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE .....	7
2.1. Värvained ja värvimine .....	7
2.1.1. Värvainete klassid keemilise struktuuri järgi .....	8
2.1.2. Värvainete ekstraheerimine.....	10
2.1.3. Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ).....	11
2.2. Levinumad meetodid värvainete analüüsimiseks .....	11
2.2.1. HPLC (Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia).....	12
2.2.2. Fiberoptiline peegeldusspektroskoopia (FORS) .....	12
2.3. Fluorestsentspektromeetria .....	13
2.3.1. Mitte-läbiv geomeetria ( <i>front-face geometry</i> ).....	15
2.3.2. Ergastus- ja emissioonimaaatriks (EEM).....	15
2.4. Erinevad tekstiilikiu tüübid .....	16
2.5. Peitsid .....	17
2.6. Programm R.....	18
3. EKSPERIMENTAALNE OSA.....	19
3.1. Kasutatud aparatuur .....	19
3.1.1. EEM spektrite töötlemine ja esitamine .....	19
3.2. Võrdlusproovide ja värvaine päritolu .....	20
3.3. Kiudude värvimine vereva vöödikuga ja erinevate peitsidega .....	21
3.3.1. Värvimismeetodid .....	22
3.4. Villakiududele kantud värvainete analüüs fluorestsentspektromeetria meetodil.....	23
4. TULEMUSED JA ARUTELU.....	24
4.1. EEM spektrite karakteristikkus looduslike värvainete analüüsimisel .....	25
4.2. Peitsi mõju värvaine fluorestsentsile .....	28

4.2.1.	Peitsi mõju värvaine fluorestsentsile.....	28
4.2.2.	Värvaine kasvukeskkonna ja säilitusviisi mõju värvaine emissioonile.....	31
4.3.	Pärandväärtusega proovid.....	32
4.3.1.	Pärandväärtusega proovide analüüs fluorestsentspektromeetria abil .....	32
4.3.2.	Pärandväärtusega proovide kinnitav analüüs LC-MS meetodil.....	35
5.	KOKKUVÕTE.....	36
6.	SUMMARY .....	38
7.	KASUTATUD KIRJANDUS .....	40
8.	LISAD .....	43

## LÜHENDITE LOETELU

<b>Lühend</b>	<b>eestikeelne vaste</b>	<b>inglisekeelne vaste</b>
<b>HPLC</b>	Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia	High-performance liquid chromatography
<b>LC-MS</b>	Vedelikkromatograafia massispektromeetria	Liquid chromatography mass-spectrometry
<b>FORS</b>	Füüberoptiline peegeldusspektroskoopia	Fiber optics reflectance spectroscopy
<b>FT-IR</b>	Fourier' teisendusega infrapunspektroskoopia	Fourier-transform infrared spectroscopy
<b>NMR</b>	Tuumamagnetresonants	Nuclear magnetic resonance
<b>WoF</b>	Kiumass	Weight of fiber

## 1. SISSEJUHATUS

Värvimine on läbi ajaloo olnud tähtis tegevus paljudes erinevates kultuurides. Samasuguseid tehnikaid värvainete ekstraheerimiseks ja värvimiseks võib leida erinevatest ajaperioodidest ja geograafilistest asukohtadest.

Loodusest saadavaid värvaineid on kasutatud villa, siidi või lina värvimiseks juba tuhandeid aastaid. Kui tahetakse looduslike värvainetega värvida tuleb alguses ekstraheerida värvaine välja taimedest, seentest või putukatest. Kuid tänapäeval kasutatakse värvimiseks põhiliselt sünteetilisi värvaineid, sest nendega on kiirem mitmeid asju korraga värvida ja teiseks on see ka odavam. Ammustel aegadel oli kõige kergem ja kiirem moodus värvimiseks otse värvaine looduslikku allikat kasutada.

Kasutatud värvainete identifitseerimine pärandväärtusega objektidelt annab olulist informatsiooni kuidas ja milliste värvainetega neid objekte värvitud on, samas on värvainete teadmine oluline ka otsustamiseks, kuidas objekte paremini säilitada ja vajadusel restaureerida. Paraku on mitmeid erinevaid tegureid, mis segavad värvainete tuvastamist sellistes objektides. Üheks selliseks teguriks on värvaine madal kontsentratsioon proovis, teiseks teguriks on see, et väga sageli kasutati värvimisel värvainete segusid – et saada soovitud tooni oli vaja värvimisel mitmeid värvaineid kokku panna. Samuti võivad aastatepikkused kokkupuuted valguse, niiskuse ja temperatuuriga muuta värvimolekulide struktuuri. Arvestades neid tegureid tuleb pärandväärtusega objekte analüüsides eelistada meetodeid, mis on piisavalt tundlikud ja spetsiifilised.

Pärandväärtusega objektides kasutatud värvainete kohta saaks kasulikku esmast informatsiooni kasutades mitte-destruktiivseid meetodeid, nendeks on enamjaolt spektroskoopilised meetodid.

Käesolevas töös uuriti fluorestsentspektroskoopia rakendatavust looduslike värvainete uurimiseks. Töö eesmärgid on jagatud kolmeks osaks. Uuriti, millised looduslikud värvained fluorestseerivad ja kui iseloomulikud on registreeritud ergastus- ja emissioonimaatriksid. Selgitati välja, milline on verevas vöödikus leiduva värvaine kasvukeskkonna, peitsi ja värvimistehnika mõju spektrile. Viimaks rakendati varasemalt kogutud võrdlusproove, et määrata fluorestsentspektrometria meetodil pärandväärtusega proovides olevaid värvaineid.

## **2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE**

### **2.1. Värvained ja värvimine**

Ajalooliselt on looduslikke orgaanilisi värvaineid kasutatud tintide ja järvepigmentide valmistamiseks ning kangaste värvimiseks [1].

Looduslikke värvaineid pärinevad taimedest, loomadest või mineraalidest. Tänapäeval on looduslike värvainete kasutamine tekstiilide värvimiseks vähenenud, sest looduslike värvainetel on mitmeid piiranguid. Näiteks võib värv olla ebahomogeense koostisega, puudulike vastupidavusomadustega või seondub kiuga halvasti ja nõrgalt. Suur osa looduslikest värvainetest omab halba vastupidavust valgusele, sellepärast näevad ka ajaloolised tekstiilid tihti erinevad välja võrreldes originaalidega. Valguse mõjul lõhutakse värvis olevaid keemilisi sidemeid. Selle tõttu on kasutusele hakatud võtma peitse, sest need suudavad parandada värvi ühtlust ja vastupidavusomadusi [2, 3].

Looduslikke värvaineid saab jagada klassidesse mitut erinevat moodi: keemilise struktuuri, päritolu, värvi või kasutusviisi järgi. Kasutusviisi järgi jagatakse neid peits-, küüp- ja otsevärvaineteks.

#### **Peitsvärvained**

Enamus looduslikke orgaanilisi värvaineid kuulub peitsvärvainete hulka. Need värvained seonduvad tekstiilmaterjaliga, lisades peitsi, mille katioon moodustab kompleksi kiu külge (vt allpool). Kui selliste värvainetega peitse ei kasutataks, siis ei seonduks värvaine tugevalt kiule ja värvaine ei oleks vastupidav pleekimisele või pesemisele. Peitsvärvaineteks on näiteks košenill, punavärvik ja värvireseeda. Kõige rohkem kasutatud peitsideks on näiteks raua-, tina-, alumiiniumi- ja vasesoolad. Suur osa sellistest värvainetest annavad erinevaid värvitoone olenevalt, millist peitsi kasutatakse [1, 3].

#### **Küüpvärvained**

Järgmiseks klassiks on küüpvärvained, need on looduslikult lahustumatud värvi allikad, mis muudetakse lahustuvateks peale vaatides kääritamist. Küüpvärvainete hulka kuulub kolm levinut värvainet, nendeks on harilik sinerõigas, indigo ja tüürose lilla. Need värvained on lahustumatud enimkasutatud solventides, nagu vesi, metanool või etanool. Redutseerimisel, näiteks naatriumditioniidiga ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ), saadakse neist värvainetest vees lahustuv vorm (leukovärv). Redutseeritud kujul on küüpvärvained suhteliselt vastuvõtlikud

tselluloosikiududele ning peale villakiusse imendumist reoksüdeeritakse tagasi vees lahustumatuks vormiks [1, 3, 4].

## Otsevärvained

Viimaseks grupiks on vees lahustuvad otsevärvained. Neid saab kiule siduda ilma peitsimiseta. Otsevärvained omavad suurt afiinsust kiule, erinevalt peitsvärvainetest, ning kinnituvad kiu külge tänu vesiniksidemetele ja van der Waalsi jõududele. Otsevärvaineid nimetatakse ka anioonseteks värvaineteks, mida kantakse kiule elektrolüüte sisaldavas vesivannis, kasutades näiteks naatriumkloriidi (NaCl) või naatriumsulfaati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Neid värvaineid saab kanda otse kiule ilma, et see värv pesu käigus või pleekides kergelt maha tuleks. Ühed sellistest värvainetest on värvisafloor, safron ja henna [5–7].

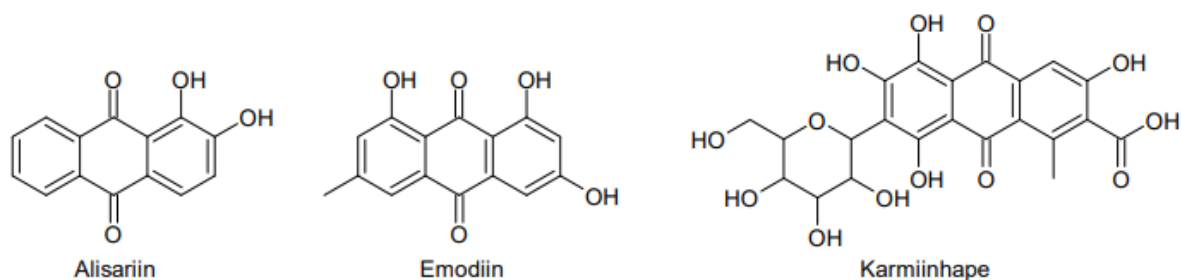
### 2.1.1. Värvainete klassid keemilise struktuuri järgi

Keemilise struktuuri järgi võib jagada värvaineid indigoidideks, antrakinoonideks, flavoonideks ja tanniinideks [1, 3].

#### Antrakinoonid

Antrakinoonid on looduses rohkelt esinevad värvained, mille värvus võib varieeruda oranžist tumepunaseni. Antrakinoonid on enamasti peitsivärvained [3]. Need värvained moodustavad kahe aromaatses tsükli fenoolsete hüdroksüülrühmade kaudu mitmete katioonidega komplekse, näiteks võib moodustada komplekse Al<sup>3+</sup> iooniga. Enim kasutatavad taimed millest antrakinoone eraldatakse, et saada punast värvainet, on harilik punavärvik (*Rubia tinctorium*) ja hobumadar (*Galium verum*). Peale selle saadakse suur hulk antrakinoonideid värvainetest *Coccidea* perekonda kuuluvatest taimeputukatest [1].

Antrakinoonide hulka kuuluvate värvainete levinud komponendid on näiteks alisariin, purpuriin, emodiin, karmiinhape ja kermesiinhape. Mõned neist on kujutatud Joonisel 1 [1, 8].

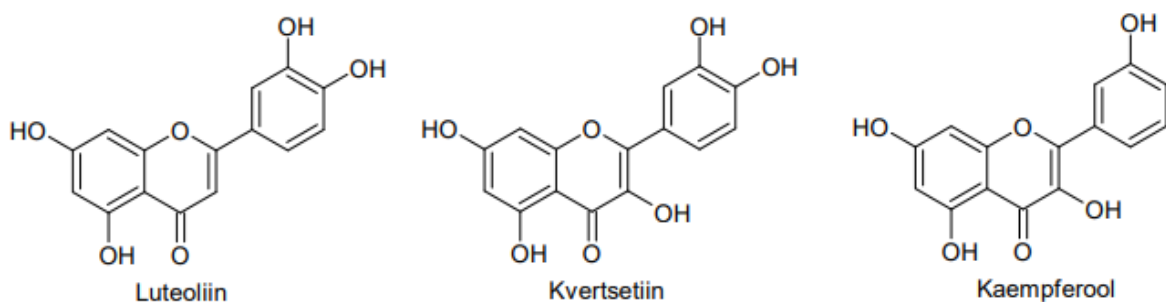


Joonis 1. Alisariini, emodiini ja karmiinhappe struktuurid

## Flavonoidid

Flavonoidid on enamasti kollakad paljudes taimedes esinevad värvained, mis baseeruvad flavooni ja isoflavooni baasstruktuuridel. Neid värvaineid kasutatakse enamasti peitsidega koos, seega nad kuuluvad peitsvärvainete alla. Kõige tavalisemad kollase värvaine allikad on näiteks värvireseeda (*Reseda luteola*), värvi-leetpõõsas (*Genista tinctoria*) ja värvi-paskhein (*Serratula tinctoria*) [1, 9].

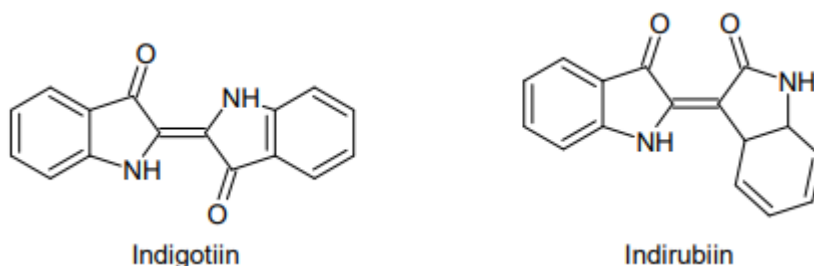
Joonisel 2 on välja toodud kolm flavonoidi keemilist struktuuri [1], peale nende on tuntud veel fisetiin, moriin, makloriin, apigeniin ja genisteiin [8].



Joonis 2. Luteoliini, kvertsetiini ja kaempferooli struktuurid

## Indigoidid

Indigoidid on sinakat-lillakat tooni värvained, mida enamasti kasutatakse küüpvärvainetena. Tüürose lilla ja indigo sinine on ühed tuntumad indigoidid, mida on juba ammu ajast kasutatud. Selle grupi ühendid koosnevad indigoidsete molekulide segudest. Indigoidide värvianadvateks komponentideks on näiteks indigotiin või indirubiin (Joonis 3). Ühed tuntumad indigoidide allikad on harilik sinerõigas (*Isatis tinctoria*) ja värvi-indigopõõsas (*Indigofera tinctoria*) [1].



Joonis 3. Indigotiini ja indirubiini struktuurid

## **Tanniinid**

Tanniinid on taimede hulgas levinud polüfenoolsed ühendid. Tanniine saab omakorda jagada veel hüdrolüüsitavateks, mis lahustuvad vees, ning kondenseeritud tanniinideks, mis vees ei lahustu. Rauasoola peitse kasutatakse koos värvainetega, mis põhinevad tanniinidel, et saada tumedamaid toone või lausa musti värvaineid [1].

### **2.1.2. Värvainete ekstraheerimine**

Looduslikke värvaineid ei saa ilma ekstraheerimiseta kiudude värvimiseks kasutada, sest selliselt värvides tulevad värvid tuhmid. Kui tahetakse tugevamaid toone ja erksamaid värve, tuleb alguses taimedest, seentest või lilledest ekstraheerides värvaine kätte saada. Ekstraheerimisel kasutatavaid meetodeid on mitmeid, kuid mõned kasutatumad on veepõhised meetodid, kuid on olemas ka ultraheli ja ülekritilise vedeliku ekstraheerimist ning keerulisemaid lahustisüsteeme [3].

### **Traditsioonilised veepõhised meetodid**

Veepõhised meetodid on ühed lihtsamad ja vanimad meetodid värvainete ekstraheerimiseks. Selle meetodi korral algmaterjal esmalt kuivatatakse, et eemaldada suurem osa vett. Peale seda lõigatakse materjal peenikesteks tükkideks (vahel ka jahvatatakse pulbriks). Seejärel pannakse tükid vette, mida hakatakse keetma. Peale keetmist lahustatakse filtritakse, et eemaldada tahked osad ja värviekstrakt ongi värvimiseks valmis. Ekstraheerides saab muuta erinevaid tingimusi, nagu temperatuur, vee pH, ekstraheerimisaeg ning algmaterjali ja vee vahekord [3].

### **Täiustatud ekstraheerimismeetodid**

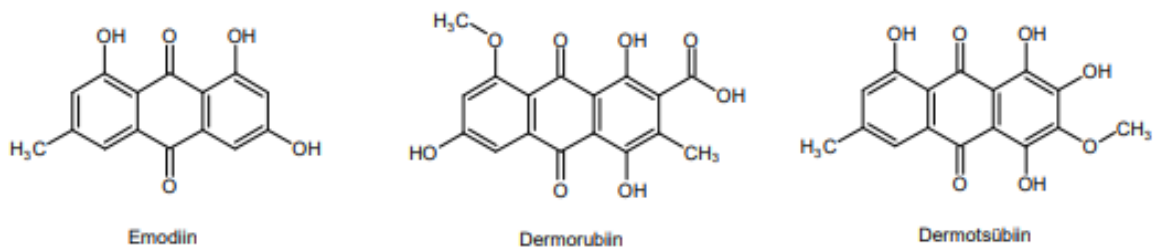
Esimene meetod on ultraheli abil ekstraheerimine, mille puhul arvatakse, et ultraheli kasutamine kiirendab reaktsioone madalamatel temperatuuridel, mis vähendab ekstraheerimisaega ja võib parandada ekstraheerimise lõpptulemust [3]. Teine täiustatud ekstraheerimismeetod on ekstraktsioon ülekritilise vedelikuga, mis on värvaine eraldusmeetod, mis põhineb ainete suuremal lahustumisvõimel, kui nende temperatuuri ja rõhu kombinatsioon ületab kriitilise punkti. Meetod kasutab enamasti puhast, odavat ja ohutut lahustit süsinikdioksiidi [3]. Kolmandaks võimaluseks on ekstraheerimine orgaaniliste lahustitega. Selle meetodi korral kuivatatakse algmaterjal ära ja purustatakse väikesteks tükkideks. Peale seda materjal ekstraheeritakse lahustiga või lahustite seguga. Lahustiks võivad olla näiteks atsetoon, kloroform, etüüleeter, alkohol jm [3].

### 2.1.3. Verev vöödik (*Cortinarius sanguineus*)

Verev vöödik on üleni tumepunane väike seen (läbimõõt tavaliselt kuni 2 cm). Verev vöödik kasvab Põhja-Ameerika ja Euroopa okasmetsades juuli keskpaigast oktoobrini [10, 11]. Põhilised värvi andvad ja fluorestseeruvad komponendid verevas vöödikus on emodiin, dermotsübiin ja dermorubiin (Joonis 5) [12, 13]. Need värvained kuuluvad peitsvärvainete hulka [14]. Seenepõhiseid värvained on ajalooliselt harvemini värvimisel kasutatud kui taimseid värvaineid. Verevat vöödikut on kasutatud antrakinoonvärvainete allikana [15].



Joonis 4. Verev vöödik



Joonis 5. Emodiini, dermorubiini ja dermotsübiini struktuurid

## 2.2. Levinumad meetodid värvainete analüüsimiseks

Värvainete ja pigmentide analüüsimine ning identifitseerimine kultuuriväärtuslikel objektidel on oluline, et saada informatsiooni objekti päritolu, valmistamismeetodite ja ajaloolise tähtsuse kohta. Värvainete uurimise jaoks rakendatakse mitmeid erinevaid analüütilisi meetodeid ning kogutakse ja valmistatakse võrdlusmaterjale, mis koondatakse andmebaasidesse [16]. Ajalooliste objektide värvaine analüüsimine on keeruline, kuna tihti on värvimiseks kasutatud mitut erinevat värvainet ja värvimismeetodit. Ajahambast puretud proovide korral on analüüs veelgi keerulisem, arvesse tuleb võtta võimalikke lagunprodukte värvainete ja teiste proovi komponentide lagunemisest ning ümbritsevast keskkonnast proovile sattunud ühendeid (näiteks puhastusvahendid) [1]. Lisaks sellele on veel üks tähtis küsimus ajaloolistel objektidel värvaine analüüsimisel, kuidas analüüsida objekti ilma seda rikkumata. On mitmeid

analüüsimeetodeid värvainete uurimiseks ja identifitseerimiseks, suurem osa neist on destruktiivsed, mis eeldavad proovi eeltötlust või kahjustavad proovi analüüsi käigus. Kuid on ka selliseid meetodeid, mis ei riku uuritavat objekti. Mitte-destruktiivsed meetodid võimaldavad saada objektilt informatsiooni ilma seda kahjustamata, võimaldavad kaardistada sarnaste spektriomadustega alasid, jälgida lagunemise, pleekimise ja spektraalse karakteristlikkuse muutusi vananemise ajal [1].

Kasutatavateks analüüsimeetoditeks on näiteks HPLC, Raman, FORS, FT-IR, NMR, X-ray difraktsioon ja fluorestsentspektromeetria [17].

### **2.2.1. HPLC (Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia)**

HPLC kasutamiseks värvainete analüüsimiseks tuleb esimese asjana värvained kiududest eraldada. Värvainete eraldamine ekstraheerimise teel on destruktiivne ja mitme etapiline protsess (erinevad lahustid, lahuse soojendamine jne), muutes proovi ettevalmistuse aeganõudvaks [18] ja kahjustades analüüsitavat objekti. Peale ekstraktsiooni on ka teistsuguseid probleeme HPLC meetodiga proovi analüüsid, näiteks proovi kogus. Tähtsa ajaloolise objekti korral ei saa suuri koguseid proove analüüsiks võtta või on igasugune proovivõtmine ja objekti potentsiaalne kahjustamine välistatud. Looduslike värvainete korral võib probleemiks osutuda ka referentsainete kättesaadavus, mitmeid puhtaid ühendeid ei ole võimalik kommertsiaalselt saada [19].

Kirjanduse kohaselt on HPLC meetodiga analüüsid kõige sobilikum kasutada ESI (elektropihustusionisatsioon) ionisatsiooniallikat polaarsete ühendite jaoks, nagu näiteks antrakinoonid, flavonoidid ja tanniinid, kuid indigoidide jaoks ei ole see kõige parem ionisatsiooniallikas, sest indigoidid on madala polaarsusega [1] ja ioniseeruvad elektropihustusega halvasti. Mitmete indigoidilaadsete ühendite jaoks on HPLC meetodis kasutatud atmosfäärirõhu fotoioniseerimist [20]. MS (massispektromeetria) põhineb iooni tekkel gaasifaasis ja nende ionide jagamisel massi/laengu järgi erinevatesse rühmadesse. MS on ise väga hea meetod, sest on tundlik, selektiivne ja kiire, kuid nagu kõigi heade asjade korral ei puudu ka sellel negatiivsed omadused, selleks on masina maksumus ning meie jaoks kõige tähtsam omadus villakiudude analüüsimisel, MS on oma olemuselt destruktiivne, mõõtmine on võimalik ainult eelneva ekstraheerimisega [8].

### **2.2.2. Fiiberoptiline peegeldusspektroskoopia (FORS)**

Fiiberoptilist peegeldusspektroskoopia meetodit saab kasutada, et analüüsida värvaineid ning pigmente kiiresti ja mitte-destruktiivselt. FORS meetodi oluliseks puuduseks on, et meetod ei

ole rakendatav proovidele, millel on värvaine kontsentratsioon liiga kõrge või liiga madal, sest siis saadakse spektrid, millelt ei ole võimalik karakteristikke piike vaadelda. Sellegipoolest on FORS sageli kasulik meetod, sest pole vaja teha proovi eeltöötlust ning proove saab analüüsida kiiresti. Seega saab analüüsida palju proove lühikese aja jooksul, mis võivad hiljem aidata määrata erinevaid värvaineid [21].

FORS meetodit kasutatakse enamasti kunstiteostest anorgaaniliste pigmentide tuvastamiseks. Värvitud tekstiilikiudude tuvastamiseks on seda meetodid vähe kasutatud. On leitud, et FORS meetodi abil on võimalik eristada mitmeid punaseid värvainete üksteisest, kuid kollaseid värvaineid on selle meetodiga keerulisem eristada [21, 22].

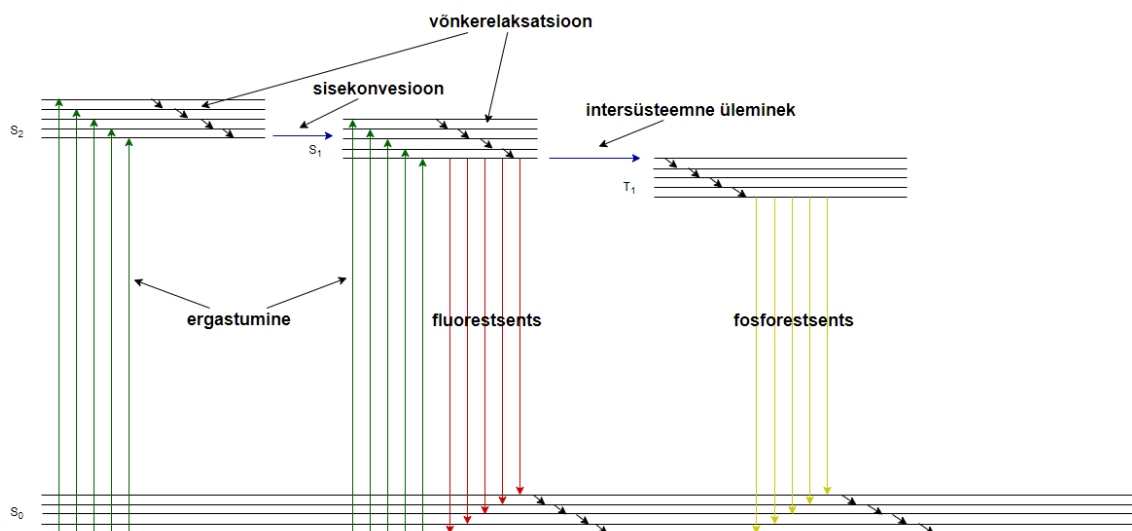
### **2.3. Fluorestsentspektromeetria**

Fluorestsentspektromeetria on spektromeetiline meetod, millega saab uurida erinevate ühendite fluorestsentsi intensiivsust, mis võib sõltuda nii ergastava kui ka emiteeritava kiirguse lainepikkusest. Kuid et fluorestsents tekkida saaks tuleb molekuli esmalt ergastada, seda tehakse tavaliselt kas UV või nähtava kiirgusega. Kindlatel tingimustel võib ergastatud molekul kiirguslikult relakseeruda, tekitades fluorestsentsi.

Fluorestsentspektromeetrias, et oleks üldse võimalus fluorestsentsi tekkeks peab molekul esmalt neelama footoni, mis ergastab molekuli. Neeldumist ja emissiooni näidatakse tavaliselt Jablonski diagrammi abil, kus alaindeksitega on märgitud, mitmenda ergastusnivooga on tegemist ning ülaindeksid näitavad, millise võnkealamnivooga on tegemist mingil kindlal ergastusnivoole. Vaatleme juhtu, kus molekul ergastub olekusse  $S_2$ . Peale ergastamist peab molekul tagasi algolekusse  $S_0$  naasma, kuid et see toimuda saaks peab toimuma kiirguseta üleminek olekusse  $S_1$ . See võib toimuda kahe erineva protsessi kaudu. Üheks protsessiks on võnkerelaksatsioon, see toimub kui ergastatud molekul on samal ergastusnivoole ehk  $S_1$ -le, kuid kõrgemal võnkenivoole. Näiteks kui molekul asub ergastatud oleku  $S_1$  kõrgeimal võnkenivoole, toimuvad võnkerelaksatsioonid kuni molekul jõuab oleku  $S_1$  madalaimale võnkenivoole. Teiseks protsessiks on sisekonversiooni üleminek, mis toimub kui molekul on ergastatud kõrgemale ergastusnivoole. Näiteks molekul on ergastusnivoole  $S_2$ , toimub sisekonversiooni üleminek olekusse  $S_1$  [23, 24].

Kui molekul on peale kiirguseta üleminekut jõudnud olekusse  $S_1$ , tuleb edasise relaksatsiooni abil saada molekul tagasi algolekusse  $S_0$ . Esimene võimalus selleks on kiirguseta sisekonversiooni üleminek, nagu varem sai mainitud, toimub sisekonversiooni üleminek kui molekul on kõrgemal ergastusnivoole. See üleminek on efektiivne juhul kui kahe erineva

ergastusnivoo energiatasemed on üksteisele nii lähedal, et nende võnkenivoode energiatasemed kattuvad üksteisega. Teine võimalus algolekusse jõudmiseks on kiirguseta väliskonversiooni üleminek. Väliskonversiooni korral toimub relaksatsioon peale seda, kui ergastatud molekul annab oma energia ära põrgates vastu solvendi või muude molekulidega. Nii sisekonversiooni kui ka väliskonversiooni ülemineku karakteristikud ajad on samal vahemikus,  $10^{-6} - 10^{-12}$  s. Kolmandaks võimaluseks on kiirguslik üleminek ehk fluorestsents, mille karakteristik aeg on sama, mis eelmise kahe korral. Selle ülemineku ainus erinevus on, et relaksatsiooni käigus kiiratakse footoni. Neljandaks ja viimaseks relaksatsiooni võimaluseks on fosforestsentsi teke. Alguses peab tekkima intersüsteemne üleminek, kus ergastatud osake läheb singletsest olekust ( $S_1$ ) üle tripletsesse olekusse ( $T_1$ ). Et seda üleminekut saaks üldse toimuda peab tripletne olek selle molekuli jaoks eksisteerima ja nagu sisekonversiooni korral, peavad ka siin nende kahe oleku võnkenivoode energiatasemed olema lähestikku. Peale seda kui osake on jõudnud tripletsesse olekusse on võimalik algolekusse relaksatsiooniks kaks võimalust. Üks neist on kiirguseta üleminek ja teine on fosforestsents, mille karakteristik aeg on  $10^2 - 10^6$  s [23, 24]. Jablonski diagramm on toodud Joonisel 6.



Joonis 6. Jablonski diagramm

Fluorestsentsi teke esineb tavaliselt aromaateses molekulides, kuid mitte igasugustes aromaateses ühendites. Lihtsate heterotsüklike korral fluorestsentsi näha ei ole, nagu pürrool või püridiin, kuid kui lisada neile juurde benseeniring, suureneb selliste molekulide molaarne neeldumine. Selle tõttu on selliste molekulide ergastatud oleku eluiga lühem ning on võimalik vaadata ühendite nagu kinoliini või indooli fluorestsentsi. Kui benseeniringi lisamine võib fluorestsentsi intensiivsust tõsta, siis mõned kõrvalahelad võivad seda vähendada, nagu näiteks

halogeenid, nende korral toimub pigem intersüsteemne üleminek tripletsesse olekusse. Fluorestsentsi tekke tõenäosust mõjutab ka molekuli jäikus ehk kui palju on molekuli sidemed võimelised liikuma, mida jäigem on molekul seda suurema tõenäosusega ta fluorestseerub [24].

Fluorestsentspektromeetria suurimaks eeliseks teiste meetodite ees on võimalus analüüsida proove ilma eelneva proovitöötluseta ja proovi kahjustamata. Meetodi mittedestruktiivsus on tähtis just analüüsides ajalooliselt tähtsaid objekte, olgu nendeks raamatud, maalid või maalingud seintel. Peale mittedestruktiivsuse on fluorestsentspektromeetria instrumenti miniaturiseeritav ja kaasaskantav. Kuid nagu kõigi meetodite korral on ka sellel meetodil omad puudused, üheks neist on piiratud rakendusala, sest paljud ühendid ei ole jäigad ja aromaatsed ning ei fluorestseeri.

Varasemalt on fluorestsentsi ja kolmemõõtmelist fluorestsentsi kasutatud orgaaniliste pigmentide, värvitud tekstiilide ja pindade mittedestruktiivseks analüüsiks [1].

### **2.3.1. Mitte-läbiv geomeetria (*front-face geometry*)**

Mitte-läbiva geomeetria korral kasutatakse optilisi fiibreid fluorestsentsi intensiivsuse mõõtmiseks. Fiibrite abil saab analüüsi läbi viia kiirgusallikast ja detektorist kaugemal. Selle geomeetria korral ergastatakse proovi laserkiirgus abil, mis liigub mööda ühte optilist fiibrit analüüsitava proovini. Peale proovi ergastamist, liigub tekkiv emiteeruv kiirgus tagasi detektorisse mööda teist optilist fiibrit. Suurim erinevus kõige rohkem kasutatava klassikalise 90-kraadise geomeetria on, et siin ei läbi kiirgus proovi, vaid ergastatakse ainult proovi pinnal olevaid molekule. Seda geomeetria kasutatakse kõige rohkem tahkete proovide ja kõrge neelduvusega lahuste korral [24].

### **2.3.2. Ergastus- ja emissioonimaaatriks (EEM)**

Ergastus- ja emissioonimaaatriksite korral mõõdetakse emissioonispektreid erinevatel ergastuslainepikkustel astmeliste intervallidega, olgu nendeks kas 5 nm või 10 nm. Neid spektreid saab hiljem vaadata kolmemõõtmelise graafikuna, mis näitab emissioonimaksimumide asukohti mägedena või kahemõõtmelise kontuurkaardina. Tahketest proovidest tehtud EEM spektrid sisaldavad intensiivseid hajuvuspunkte, Rayleigh esimest ja teist järku hajumine, mis võivad segada meie proovide emissioonimaksimumide interpreteerimisi. Esimest järku hajumine tekib kui ergastus- ja emissioonilainepikkused on võrdsed ning teist järku hajumine tekib kui emissioonilainepikkused on kaks korda suuremad kui ergastuslainepikkused [25].

## 2.4. Erinevad tekstiilikiu tüübid

Tekstiilikiude saab liigitada looduses leiduvateks ja tehiskiududeks. Looduslikud kiud jagunevad omakorda loomset ja taimset päritolu kiududeks. Inimese loodud kiud jagunevad sünteetilisteks ja ümbertöödeldud kiududeks.

Tänapäeval tuntakse kahte põhilist loomse päritoluga kiu esindajat, nendeks on vill ja siid, mõlemad on valgulised materjalid. Villa on võimalik saada paljudelt loomadelt, nagu näiteks jäneselt, alpakalt, kitselt, kuid kõige rohkem kasutatakse tekstiilitööstuses lambavilla. Vill koosneb enamjaolt keratiinist, täpsemalt  $\alpha$ -keratiinist, milles esinebalaniini, leutsiini, tsüsteiini ja arginiini aminohappejääke [26]. Võrreldes mõne teise tekstiilikiuga on vill peitside suhtes üsna vastuvõtlik, aidates värvil paremini villakiu külge kinnituda. Vill on amfoteerne, tänu sellele imab vill happeid ja aluseid võrdselt ning efektiivselt. Kui kasutada metallisoolasid peitsidena, hüdrolüüsitakse metallisool happeliseks ja aluseliseks komponendiks. Happelisest saab lahti villa pestes, kuid aluseline komponent imendub karboksüülrühma juures [3]. Teine laialdaselt kasutatav loomne kiud on siid. Siid on väga hinnatud kiud tänu enda tugevusele (näiteks tõmbamine), elastsusele, vastupidavusele (näiteks pesemisele, lahustele) ja võimele siduda keemilisi värvaineid. Nagu vill, suudab ka siid imada mõlemaid nii happeid kui ka aluseid. Tekstiilikiu valmistamiseks kasutatakse siidiliblika vastse *Bombyx mori* kookonit, mis koosneb fibroiinist ja seritsiinist. Fibroiin, nagu ka keratiin, koosneb mitmetest aminohappejääkidest, kuid on keemilise struktuuri mõttes lihtsam [27, 28].

Kõige tuntumad taimsed kiud on puuvill, lina ja kanep. Taimsed kiud koosnevad peamiselt tselluloosist, kus leidub natukene ka hemitselluloosi. Tselluloos on taimerakkudes esinev polüsahhariid, mis koosneb jadamisi ühendatud glükoosimolekulidest [27, 28].

Nagu varem sai mainitud on üheks alarühmaks siin sünteetilised kiud. Sünteetilised kiud on keemilise sünteesi kaudu toodetud kiud, erinevalt looduslikest, mis on saadud elusorganismidelt. Alates 1950-ndatest on tekstiilidena põhiliselt kasutusel polüamiidid, nailon-6 ja nailon 6,6, polüestrid, polüetüleen tereftalaat (PET), polüpropüleen (PP) [27]. Sünteetilisi kiudude tootmiseks ja kasutamiseks on mitmeid põhjuseid. Neist ühed tähtsamad on, et sünteetiliste kiudude tootmiseks läheb vaja vähem energiat ja vett. Polüestrid on ühed kasutatavamad sünteetilised kiud, kuna neid on kerge hooldada ja need ei lähe kiiresti kortsu. Teiseks võib välja tuua polüamiidist kiud, mis on hea vastupidavusega, odavad ja neil on head värvimisomadused. Kui esmakordselt üritati polüestrist materjale värvida, see ei õnnestunud, kuna polüester on hüdrofoobne ja värvained ei kinnitunud neile. Selle tõttu loodi uued

värvimismeetodid, mis kiirendasid värvimist, vähendasid veevajadust ning kasutatud energia ja kemikaalide koguseid, seega olid kokkuvõttes keskkonnasõbralikumad [29].

## 2.5. Peitsid

Peitsid sisaldavad ühendeid, mis seonduvad kiuga peitsimise teel, et suurendada loodusliku värvaine kinnitumist kiule, moodustades kompleksi. Metalliaatom moodustab kovalentse sideme värvaine hüdroksüülrühma (või karboksüülrühma) hapnikuga ja koordinaatsideme hapniku üksiku elektronpaariga kaksiksidemel. Peitsid võivad ühendada mitu erinevat värvimolekuli kokku, et luua suuremaid komplekse ning side värvi ja kiu vahel. Enamus peitsidest on metallide soolad, nagu näiteks kroomi, tina, raua, vase ja alumiiniumi soolad. Kunagi olid vase ja kroomi soolad rohkem kasutusel, kuid tänapäeval neid eriti enam ei kasutata, sest need on toksilised. Praegusel ajal kasutatakse peitsina kõige rohkem alumiiniumi soolasid, sest need on ohutumad [30].

Peitsides on kolm erinevat meetodit: eelpeitsimine, värvimisega samal ajal peitsimine ja järelpeitsimine. Eelpeitsimise korral töödeldakse kiudu alguses peitsiga ja peale seda värvitakse kiud värvainega. Järelpeitsimine on vastupidine tegevus, alguses värvitakse kiud ja siis töödeldakse värvitud kiudu peitsiga. Viimaseks meetodiks on värvimisega samal ajal peitsimine, nagu meetod ütleb, pannakse kiud, peits ja värvaine kõik korraga kokku [3, 30]. Enamjaolt saab parimad lõpptulemused eelpeitsimisega, mõne peitsiga tehakse ka järelpeitsimist, kui tundub, et värvitooni ei ole selline nagu võiks. Värvimise ajal peitsimist ei tehta tihti, sest see on lihtsalt värvaine ja peitsi raiskamine, kuna mingi osa värvainest kinnitub peale villa ka peitsile [11].

Näiteid erinevatest peitsidest, mida kasutati vereva vöödikuga värvimiseks, on toodud Tabelis 1. Nendest peitsidest kõige laialdasemalt on kasutusel maarjajää, seda kasutatakse, et saada pehmeid toone. Raud- ja vasksulfaat muudavad värvitoone tumedamaks, kui neid üleliia lisada võib kiud mustaks värvuda. Olenevalt, millist peitsi kasutada ja millise WoF väärtusega, saab ühest ja samast taimest/seenest palju erinevaid värvitoone [11].

Tabel 1. Näiteid erinevatest peitsitüüpidest

Keemiline valem	Nimetus	WoF, %	Informatsioon
$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Alum ehk maarjajää, alumiiniumkaaliummaarjas	15	Carl Roth, puhtus $\geq 98\%$
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	White alum ehk valge maarjajää, alumiiniumsulfaat	15	Reahim
$\text{KC}_4\text{H}_5\text{O}_6$	Cream of tartar ehk wine stone, kaaliumvesiniktartar	5	Reahim
$\text{FeSO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	Raudsulfaat	15	Sigma-Aldrich, puhtus 86-89%
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Vasksulfaat	15	Reahim, puhtus 99%
$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Oblikhape	15	Lach-Ner
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Äädikhape	15	Honeywell, puhtus 99-100%

## 2.6. Programm R

Programm R on kergesti õpitav populaarne programmeerimiskeel, mis on kõigile tasuta kättesaadav ja kasutab avatud lähtekoodi, mis põhineb programmeerimiskeelel S. R on väga mitmekülgne keskkond, mida saab kasutada erinevat tüüpi statistiliste analüüside jaoks. Selle programmi üks parimaid omadusi on võimalus luua graafilisi funktsioone, mis on täielikult muudetavad. Kuid sellegi poolest ei ole võimalik ainult R programmiga luua interaktiivseid graafikuid ja sellepärast on arendajad otsinud võimalusi, kuidas integreerida teisi programmeerimiskeeli selleks otstarbeks. Viimastel aastatel on selleks keeleks olnud JavaScript. Muidugi on olemas ka teisi tuntuid programmeerimiskeeli, nagu Matlab või Pynthon, millega saab funktsioone graafiliselt esitada täiesti üksinda, kuid R programmil on nende ees mitu eelist. Üheks kõige tähtsamaks eeliseks on, et R on tasuta kättesaadav ja sinna saab pakette juurde lisada. Teiseks eeliseks on, et internetis on mitmeid kohti, kust saab abi programmi kasutamise kohta, nagu näiteks Rnews või Wiki. Kolmandaks eeliseks on peale programmi kasutamist saab enda koodi arhiveerida, et seda hiljem kasutada või muuta. Ning viimaseks eeliseks on, et R programmi on võimalik iga operatsioonisüsteemi peal kasutada [31–33].

### 3. EKSPERIMENTAALNE OSA

Töö käigus registreeriti ergastus- ja emissioonimaatriksid erinevate värvainetega värvitud võrdlusproovidest, mille puhul oli värvaine kantud villakiule. Võrdlusproovide analüüsimisel kogutud teavet rakendati pärandväärtusega proovide värvimiseks kasutatud värvaine määramiseks. Kuna looduslike värvainete korral on tegemist keerukate heterogeensete proovidega, uuriti töö käigus värvaine kasvukohta, säilitamisviisi, kasutatud peitsi ja värvimistehnika mõju ergastus- ja emissioonimaatriksile. Värvaineks kasutati verevat vöödikut, millega värviti erinevate meetodite abil villakiusid.

#### 3.1. Kasutatud aparatuur

Värvitud villakiudude spektrid registreeriti Horiba Fluoromax-4 spektrofluoromeetriga. Spektrofluoromeetris on kasutusel ksenoonlamp, millega saab ergastada proove lainepikkuste vahemikus 240-850 nm. Spektrite registreerimisel olid ergastus- ja emissioonikiirguse monokromaatori pilude laiused 2 ja 5 nm olenevalt fluorestsentsi intensiivsusest, mida intensiivsem seda väiksemad pilude laiused. EEM spektrid koguti *front-face* geomeetriaga (180° nurga all) sondi abil kasutades Horiba F4-3000 fiiberoptilist adaptrit ja kiudoptikat mudelit 1950. Fiibrisond ja proov paiknesid isehitatud mõõtmiskambris (25x25x29 cm), et vältida segavat kiirgust ümbritsevast keskkonnast. Sondi otsa diameeter oli 4 mm, ergastus- ja emissioonikiud paiknesid fiibris läbisegi, mis lihtsustas proovi asetamist sondi alla ja võimaldas analüüsida väikeseid proovi koguseid.

EEM spektrite registreerimiseks kasutati ergastuslainepikkusi vahemikus 250-600 nm ja emissioonilainepikkusi vahemikus 260-700.

Pärandväärtusega proovide jaoks kasutati kinnitava meetodina ultraefektiivset vedelikkromatograafiat koos mass-selektiivse detektoriga (UHPLC-MS). Vedelikkromatograafilise analüüsi viis läbi Kaasprofessor Koit Herodes. Proovid valmistas ette käesoleva töö autor. Kasutati Agilent UHPLC süsteemi 1290 Infinity II, mis oli ühendatud 6460 Agilent Triple Quad mass-spektromeetriga. Kolonniks Agilent Zorbax RRHD SB-C16, kus eluendiks B oli metanool ja eluendiks A oli 0,1% sipelghape MilliQ vees. Ioniseerimiseks kasutati elektropihustusioonallikat, mis töötas negatiivses režiimis.

##### 3.1.1. EEM spektrite töötlemine ja esitamine

EEM graafikud koostati programmiga R, millega on võimalik töödelda ja esitada graafiliselt spektrofluoromeetriga saadud spektriandmeid. Graafikul esitati ergastuslainepikkused

vahemikus 300-600 nm ja emissioonilainepikkused vahemikus 310-700 nm. Emissiooni intensiivsus oli väljendatud spektrofluoromeetri tarkvaras kui määratlemata ühik.

R programmiga eemaldati spektritelt Rayleigh esimest ja teist järku hajumispiigid. Rayleigh esimest järku hajumise korral jõuab ergastuskiirgus detektorisse ja intensiivne hajuskiirguse piik asub kasutatud ergastuslainepikkusel. Rayleigh teist järku hajumise korral tekib hajuskiirguse piik kasutatud ergastuslainepikkusest kaks korda pikematel lainepikkustel. Hajuskiirguse piigid on üldiselt intensiivsed ja segavad, mistõttu tuleb need eemaldada. Segavate hajuskiirguse piikide eemaldamisel tulevad EEM spektris selgemini esile uuritava proovi emissioonimaksimumid.





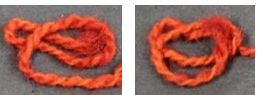







### **3.2. Võrdlusproovide ja värvaine päritolu**

Erinevate värvainete ja värvimismeetoditega värvitud kiud (27 erineva värviga värvitud võrdlusproovi, mis andis kokku *circa* 75 võrdlusproovi) on pärit Krista Wright'lt (Kalevalaisten Naisten Liitto), kus ta on lisaks looduslikele peitsidele (fermenteerimine, puukoor, samblik) värvimisel peitsina kasutanud ka maarjajääd ja *cream of tartar*-i. Osa vereva vöödikuga värvitud kiudusid (6 proovi) saadi ERMist, mis olid värvitud 2015. aastal ja kasutades erinevaid peitse. Peitsi ja kasvukeskkonna mõjude hindamiseks EEM spektritele valmistati erinevate verevate vöödikutega ja peitsidega värvitud kiud vastavalt kirjandusest leitud juhistele ise. Erineva päritoluga verev vöödiku eksemplarid koguti kontakteerudes mükoloogide, seenenäituste korraldajatega ja seenehuvilistega sotsiaalmeedia gruppides. Värsket verevat vöödikut õnnestus töö autoril 2022. aasta oktoobris Tartu lähedalt ise korjata. Liigigrupp *Cortinarius sanguineus* määrati mikroskoopilise vaatluse ja anatoomiliste tunnuste põhjal Tartu Ülikooli mükoloogia õppetoolis prof. Urmas Kõljala ja teaduri Irja Saare poolt. Külmutatud verevat vöödikut saadi Kaie Kulperilt, seened olid korjatud 2020. aastal Raplamaalt. Ülejäänud seened saadi Merili Rosenbergi (korjatud 2022. aastal Jõgevamaalt, säilitatud kuivatatult), Liia Taaleri (korjatud 2022. aastal Võrumaalt, säilitatud sügavkülmutatult) ja Uve Ramsti (korjatud 2022. aastal Põhja-Eestist, säilitatud kuivatatult) käest. EEM spektrite registreerimiseks referentsainest ja kiudude värvimiseks kasutati emodiini (Sigma-Aldrich, *Frangula* koorest, puhtus  $\geq 90\%$ ). Emodiin on üks peamine fluorestseeruv ühend, mida verevas vöödikus leidub, ja ainuke fluorestseeruv põhikomponent, mis oli kommertsiaalselt kättesaadav. Pärandväärtuse proovid (11) saadi Eesti konserveerimis- ja digiteerimiskeskusest Kanut Signe Vahuri eestvedamisel.

### 3.3. Kiudude värvimine vereva vöödikuga ja erinevate peitsidega

Villakiudude värvimiseks kasutati mitmeid erinevaid peitse (toodud Tabelis 1) – maarjajää, valge alum, *cream of tartar*, raudsulfaat, vasksulfaat, oblikhape ja äädikhape. Lühendid MD ja M+D tähistavad kasutatud värvimistehnikat. MD korral värviti eelnevalt peitsitud lõnga, M+D korral lisati peits värvilahusesse ning peitsimine ja värvimine toimus samaaegselt (Tabel 2).

Tabel 2. Kiudude värvimiseks kasutatud värvaine (verev vöödik) päritolu ja värvimismeetod

Koodi nr	Värvimismeetod	Päritolu (asukoht, aeg, säilitusmeetod)	Värvaine korjaja	Foto
KK1a/ KK1b	Peitsita	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK2a/ KK2b	Maarjajää, MD	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK3a/ KK3b	Maarjajää, M+D	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK4a/ KK4b	Maarjajää + tartar, MD	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK5a/ KK5b	Valge maarjajää, MD	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK6a/ KK6b	Raudsulfaat, MD	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK7a/ KK7b	Vasksulfaat, MD	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK8a/ KK8b	Äädikhape, M+D	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK9a/ KK9b	Oblikhape, M+D	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
KK10a/ KK10b	Fermentatsioon, M+D	Raplamaa, 2020, külmutatud	Kaie Kulper	
MR1a	Peitsita	Jõgevamaa, 2022, kuivatatud	Merilin Rosenberg	
MR2a	Maarjajää, MD	Jõgevamaa, 2022, kuivatatud	Merilin Rosenberg	

<b>EV1a</b>	Peitsita	Tartumaa, 2022, külmutatud	Elsa Vanker	
<b>EV2a</b>	Maarjajää, MD	Tartumaa, 2022, külmutatud	Elsa Vanker	
<b>LT1a</b>	Peitsita	Võrumaa, 2022, külmutatud	Liia Taaler	
<b>LT2a</b>	Maarjajää, MD	Võrumaa, 2022, külmutatud	Liia Taaler	
<b>UR1a</b>	Peitsita	Põhja-Eesti, 2022, kuivatatud	Uve Ramst	
<b>UR2a</b>	Maarjajää, MD	Põhja-Eesti, 2022, kuivatatud	Uve Ramst	
<b>EM1a</b>	Peitsita	Emodiini pulber, Sigma-Aldrich	-	
<b>EM2a</b>	Maarjajää, MD	Emodiini pulber, Sigma-Aldrich	-	

Kasutatud tähistused: a- peale värvimist kiud loputati deioniseeritud veega; b- kiud jäeti peale värvimist veega loputamata; MD- eelpeitsitud lõngade värvimine; M+D- peitsimine ja värvimine samaaegselt.

### 3.3.1. Värvimismeetodid

Lõigati ~15 cm villase lõnga tükid, mis kaaluti. 15 cm lõnga kaalus ~0,1 g. Arvutati värvitava lõnga summaarne mass ja selle kaudu arvutati vajaminev värvaine kogus (~300% WoF [34]).

#### Värvaine ekstraktsioon

Värvilahuse jaoks võeti mõni gramm külmutatud või kuivatatud verevat võödikut (tükeldatud), millele lisati kakssada milliliitrit MilliQ vett. Värvilahust kuumutati ~95 °C juures 2-3 tundi magnetsegajaga pidevalt segades. Saadud värvilahus valati mõttesilindrisse ja jagati võrdseteks osadeks, mida kasutati erinevalt töödeldud lõngajuppide värvimiseks.

#### Villakiudude peitsimine ja värvimine

Kasutati kahte levinud peitsimise tehnikat – eelpeitsimist (MD) ja peitsimist värvimisega samaaegselt (M+D). Paralleelselt värvilahuse valmistamisega eelpeitsiti osa lõnga. Arvutati

vajaminevad peitsi kogused (15% WoF ja 5% WoF [34]). Peitsid kaaluti (paarkümmend milligrammi) seisukolbidesse ja lisati 30 ml MilliQ vett. Lahustesse lisati eelnevalt pesemata villakiu tükid ja kuumutati keemistemperatuuri lähedal umbes 45 minutit. Villakiud tõsteti peitsilahusest välja, nõrutati, pandi värvilahusesse (40 ml) ja kuumutati keemistemperatuuri lähedal umbes 45 minutit.

Peitsimise ja värvimise samaaegseks (M+D) teostamiseks lisati vastav kogus peitsi ja lõng otse värvilahusesse ning kuumutati keemistemperatuuri lähedal umbes 45 minutit.

Osa lõnga värviti ilma peitsita, selleks lisati lõng otse värvilahusesse ja kuumutati eelnevalt kirjeldatud tingimustel. Niinimetatud kontrollproov värvimata villast valmistati kuumutades lõnga MilliQ vees samadel tingimustel. Peale värvimist vastava meetodiga loputati üks 15 cm lõnga tükk deioniseeritud veega ja asetati kuivama (koodis tähiseks b), teine tükk nõrutati ja asetati kuivama, veega ei loputatud (koodis tähiseks a).

Lisaks eelnevalt mainitud värvimistehnikatele värviti lõnga värvaine kääritamise teel. Kolbi tükeldati umbes grammi jagu külmutatud verevat vöödikut ja lisati 50 ml vett. Peale vee lisamist pandi kolbi kaalutud lõngatükid. Kolvile asetati mullilugeja ja jäeti umbes pooleteiseks kuuks toatemperatuuril seisma. Peale kääritamist pandi osad lõngajupid otse kuivama ja teised lõngajupid loputati MilliQ veega enne ära [35, 36].

### **3.4. Villakiududele kantud värvainete analüüs fluorestsentspektromeetria meetodil**

Töö esimese osana registreeriti mitmete erinevate looduslike värvainetega värvitud villakiudude EEM spektrid, et hinnata meetodi võimekust värvainete eristamisel. Töö teise osana valmistati seeria kindla värvainega värvitud proove. Värvaineks valiti Eesti metsades kasvav verev vöödik. Kasutati erinevatest kasvukohtadest korjatud ja erinevalt säilitatud verevat vöödikut (Tabel 2), et hinnata kuivõrd EEM spekter sõltub värvaine kasvukeskkonnast.

Erineva värvimistehnika ja kasutatud peitsi mõju hindamiseks valmistati seeria proove, mis värviti sama päritolu värvainega, kuid erinevate värvimistehnikatega (Tabel 2).

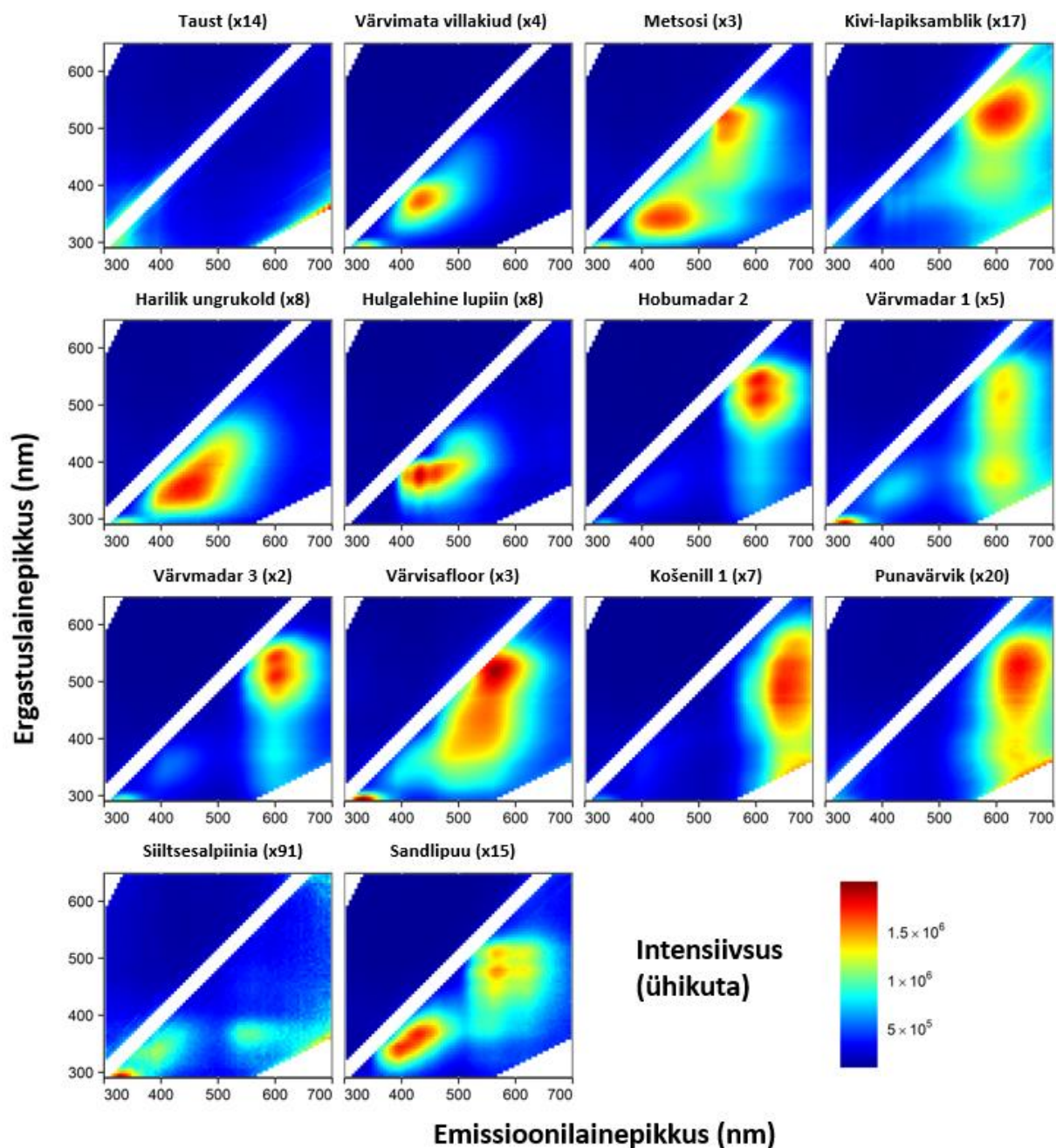
#### 4. TULEMUSED JA ARUTELU

Töö tulemused on jagatud kolmeks osaks. Kõigepealt uuriti EEM spektrite karakteristikust erinevate värvainete uurimisel – kas üldse ja kui palju võimaldab mittedestruktiivne fluorestsentspektromeetria meetod erinevaid värvaineid eristada. Töö teises osas keskenduti värvimistehnika ja värvaine päritolu mõju hindamisele EEM spektritele, kasutades verevat vöödikut kui värvaine allikat. Töö kolmandas osas rakendati kogutud teadmisi pärandväärtuslikes proovides värvaine määramiseks.

Kokku uuriti 27 erineva loodusliku värvainega värvitud villakiudu, kiudude värvimiseks kasutati erinevaid värvimistehnikaid. Kokku registreeriti 107 värvitud kiu EEM spektrid ja 11 pärandväärtusega proovide EEM spektrid, lisaks kordusmõõtmised kiudude erinevatest piirkondadest. Erinevate värvainetega värvitud kiudude päritolu, värvimistehnika, fluorestsentsi parameetrid ja fotod on toodud Lisas 1, tulemuste arutelu on esitatud alapeatükis 4.1. Pärandväärtusega proovide päritolu ja fotod on samuti esitatud Lisas 1, pärandväärtusega proovide tulemused on esitatud peatükis 4.3. Töö autori poolt vereva vöödikuga värvitud proovide informatsioon on toodud Tabelis 2 ja tulemused alapeatükkides 4.2.

Uuritud villakiud on erineva kuju ja suurusega. Väiksemate proovide korral võib osa ergastavast kiirgusest jõuda taustamaterjalile, millele proov on asetatud. Seetõttu tuleb taustaks valida materjal, mis ei fluorestseeri kasutatud ergastuslainepikkustel ja mille pinnalt ei toimu ergastava kiirguse peegeldumist detektorisse, et vältida segavate piikide tekkimist emissiooni spektris. Käesolevas töö valiti taustamaterjaliks must paber, mis neelab suurema osa kiirgusest ning mis ei fluorestseeri. Tausta EEM on esitatud Joonisel 7.

Analüüsitud villakiudude spektrid võivad sõltuda ka villa enda fluorestsentsomadustest. Villa ergastus- ja emissioonimaksimumid on vastavalt 370 ja 430 nm juures [17]. Kasutades mitteläbivat geometriat tahketelt proovidelt analüüsimiseks, registreeritakse fluorestsentsi proovi pinnalt. Kui analüüsitakse värvitud kiudusid, millel värvaine kontsentratsioon pinnal on madal või on pind ebaühtlaselt kaetud, võib toimuda villa ergastamine ja selletõttu ilmneb spektril villa emissioonimaksimum (Joonis 7), hoolimata selles, et villa enda fluorestsents on üsna nõrk. Kuna aga villa emissiooni ilmumine ja intensiivsus võib iga värvitud lõnga proovi korral olla olenevalt värvaine värvi intensiivsusest erinev, ei lahutatud töötlemata värvitud proovide EEM spektritest villa EEM spektrit. Seetõttu tuleks hoiduda spektrite põhjal järelduste tegemisest, kui signaalid asuvad villa emissioonimaksimumi ümbruses (370/430 nm). Käesolevas töös kasutatud värvainetel selles piirkonnas enamasti fluorestsentsi ei esine.



Joonis 7. Võrdlusproovide EEM spektrid. Parema visualiseerimise jaoks korrutati mõne EEM spektrite intensiivsuses sulgudes märgitud faktoriga. Spektritelt eemaldati ergastuskiirguse ja Rayleigh'i hajuskiirguse piigid.

#### 4.1. EEM spektrite karakteristiklikkus looduslike värvainete analüüsimisel

Fluorestsentsi emissioonimaksimumid on üldiselt laiad ja vähekarakteristlikud. Kogudes ergastus- ja emissioonimaatrikseid (EEM) on saadav informatsioon karakteristiklikum, eelkõige mitme-komponentsete segude korral. EEM spektrite karakteristiklikkuse uurimiseks registreeriti spektrid erinevate värvainetega värvitud villakiududelt. On selge, et kõiki värvaineid

fluorestsentspektromeetria meetodil eristada ei saa. Näiteks indigoga värvitud sinised kiud ei fluorestseeri, kuid ka fluorestsentsi puudumine on omamoodi väärtuslik informatsioon värvainete tuvastamisel (Lisa 2).

Harilikult sinerõika, soopihla ja alkaanetiga värvitud kiuproovide emissioonimaksimumid asuvad emissioonilainepikkuste vahemikus 400-500 nm (Lisa 2), mis kattub villa emissioonimaksimumi asukohaga ja seetõttu uuritav meetod mainitud värvainetega värvitud kiudude analüüsiks pigem ei sobi.

Suurem osa uuritud looduslikke värvaineid andsid iseloomulikke ja üksteisest eristatavaid EEM spektreid (Joonis 7) värvaine liigi või perekondade kaupa. Osa villakiude oli värvitud sama värvainega, kuid erinevate meetodite või peitsidega ning värvimistehnika mõju uuriti täiendavalt edasi.

Osa mittedestruktiivse kolmemõõtmelise (EEM) fluorestsentsmeetodi potentsiaalsest kasulikkusest oleks sarnast tooni värvainete eristamine ning kõige keerukam oleks püüda eristada sarnase keemilise koostisega värvaineid. Uurides registreeritud EEM spektrite hulgast punakas-oranži villakiude, saab hinnata meetodi rakendatavust punakas-oranži värvi andvate värvainete eristamiseks. Taimeliigid nagu hobumadar, värvadar ja punavärvik kuuluvad kõik samasse sugukonda – *Rubiaceae*, ning sisaldavad sarnaseid fluorestseeruvaid ühendeid – alisariin, purpuriin ja rubiadiin. Mainitud taimedega värvitud kiududel registreeritud EEM spektrid on sarnased (Joonis 7). Värvainete sarnase keemilise koostise tõttu ei saa neid värvained üksteisest eristada kasutades ainult fluorestsentspektromeetria.

Kui vaadata teiste punakate kiudude EEM spektreid, on näha märkimisväärseid erinevusi emissioonimaksimumide asukohtades. Seega, fluorestsentspektromeetria abil on võimalik eristada madaraid košenillist ja teistest punakatest värvainetest nagu siiltsesalpiinia ja sandlipuu. Erinevate madaratega värvitud kiudude EEM spektrid on iseloomulikud, kuna neil on kaks emissioonimaksimumi 600 nm juures (Joonis 7). Teiste analüüsitud punakate villakiudude spektrites ei ole sellist fluorestsentsmustrit. Punavärviku ja košenilli emissioonispektrite maksimumid on mõnevõrra punanihkes võrreldes värv- ja hobumadara spektritega, nende emissioonimaksimumid asuvad lainepikkusel üle 625 nm. Košenilliga värvitud villakiu EEM spektrit iseloomustab lai piik piki ergastusala, 400-600 nm. Registreeritud EEM spektrite põhjal võib väita, et mittedestruktiivne mitme-mõõtmeline fluorestsentspektromeetria sobib värvaine perekondade eristamiseks, kuid silmas tuleb pidada, et see meetod üksi ei võimalda eristada sarnase päritolu, perekonna või keemilise koostisega

värvaineid ja vajab kinnitavat analüüsi. Samas, isegi nende piirangutega on see meetod kasulik suhteliselt kiire kolmedimensionaalsete andmete kogumise, kontaktivaba ja mittedestruktiivse võimekusega analüüsi tõttu ja sobib seega hästi esmase info saamiseks, mille alusel kavandada edasist põhjalikumad analüüsi.

Värvmadara korral uuriti kolme erinevat proovi. Kaks neist olid värvitud juulis värskelt korjatud juurtest ning kolmas aprillis korjatud juurtest (Lisa 1). Kõigi korral oli peitsina kasutatud maarjajääd. Analüüsides kolme värvmadaraga värvitud villakiu EEM spektrit (Joonis 7) võib täheldada mõningaid erinevusi maksimumide asukohas. Aprillis värvitud villakiu emissioonimaksimumid on vahemikus 550-650 nm ergastuslainepikkuste vahemikus 350-425 ja 450-600 nm, mis kuuluvad alisariinile ja purpuriinile. Purpuriin ergastub tolueenis lainepikkustel 400-550 nm ja alisariin madalamatel lainepikkustel vahemikus 350-450 nm [37–39]. Seda kinnitavad ka tahketelt referentsainetelt (purpuriin ja alisariin) registreeritud EEM spektrid (Lisa 3), kuigi tuleb märkida, et tahkelt värvainelt või värvaine lahusest registreeritud EEM spektrid ei ole üheselt võrreldavad kiule kinnitunud värvaine EEM spektriga. Juulis värvmadaraga värvitud villakiu korral on spektril alisariinile vastav emissioonimaksimum (ergastuslainepikkusega 350-425 nm) nõrgem, kui pikemale ergastuslainepikkuse vahemikule vastav maksimum. Igal madara EEM spektril on näha nõrka emissioonimaksimumi 400-450 nm juures. Selles piirkonnas on värvimata villakiu enda emissioonimaksimum ning kõrge tõenäosusega kuulub see maksimum villale, mitte värvainele. Fluorestseeruvate ühendite sisalduse osakaal võib varieeruda olenevalt kasutatavast taimeliigist, nende kasvutingimustest, värvimiseks kasutatud taimeosast jne. Taimede korral on leitud, et fenoolsete ühendite sisaldused muutuvad keskkonna mõjul ning hooajaliselt [38, 39]. Sellepärast võivadki erinevatel aastaegadel korjatud samad taimeliigid sisaldada värvaineid erinevates kogustes ning erinevates vahekordades. Lisaks sellele võib ka värvimistehnika mõjutada värvikomponentide kinnitumist ja hulka kiul [37]. Näiteks alisariini lahustuvus maarjajääd lahuses on madalam kui purpuriniil [37]. See võib selgitada erinevust EEM spektrites ja kiule kinnitunud fluorofooride proportsioonides värvmadaraga värvitud villakiudude korral. Kolmas värvmadaraga värvitud proov (Joonis 7) värviti teise värvmadara proovi uuesti kuumutatud värvilahusega. Nende kahe proovi EEM spektrid on teineteisega sarnased.

Kollakas-oranžide kiudude puhul andsid iseloomulikke spektreid verev vöödik ja värvisafloor. Vereva vöödikuga värvitud kiudude EEM spektrilt (Joonis 8) on näha, et emissioonimaksimumid asuvad madarate emissioonimaksimumidega sarnases emissioonilainepikkuste vahemikus 575-650 nm, kuid erinevalt madaratest on vereva

vöödikuga värvitud proovidel üks emissioonimaksimum. Verev vöödik sisaldab mitmeid antrakinoonseid ühendeid ning põhilisteks värvi andvateks ühenditeks verevas vöödikus on emodiin ja dermorubiin, mille emissioonimaksimumid on vastavalt 510 nm juures ja 560-590 nm juures [40]. Värvisafloori emissioon asub ergastuslainepikkuste vahemikus 300-570 nm ja emissioonilainepikkuste vahemikus 450-625 nm (Joonis 7). Intensiivne emissioonimaksimum on 570 nm juures ergastuslainepikkuste vahemikus 535-555 nm. Sarnaseid fluorestsentsomadusi on täheldatud sellistel ühenditel nagu hüdroksüsafloor kollane A, safloorikollane A, anhüdrosafloori kollane B ja kartamiin [41].

## **4.2. Peitsi mõju värvaine fluorestsentsile**

### **4.2.1. Peitsi mõju värvaine fluorestsentsile**

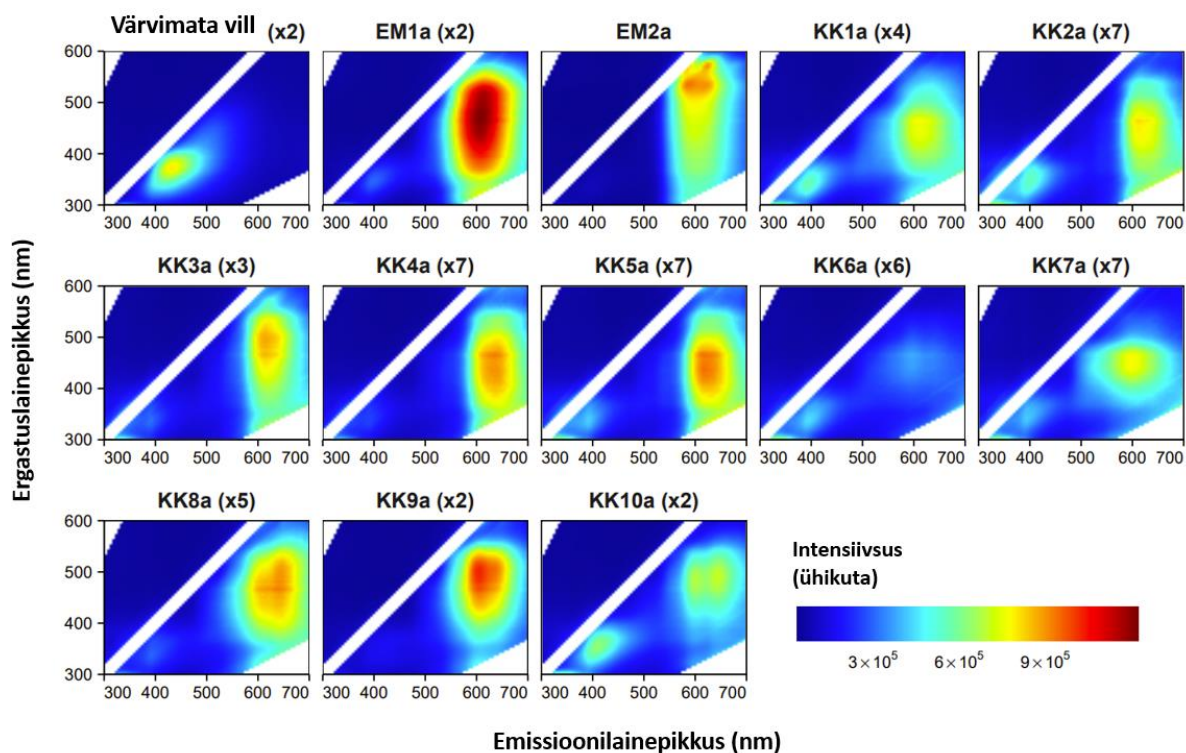
Peitsi mõju uurimiseks värvaine EEM spektritele, tehti fluorestsentsanalüüs 20-le vereva vöödikuga ja 2-le emodiiniga värvitud villakiule, millede värvimiseks kasutati 10 erinevat värvimistehnikat ja 8 levinud peitsi (Tabel 2). Kasutatud värvaine oli pärit samast kasvukohast. Homogeense värvimislahuse saamiseks teostati esmalt tahke-vedelik ekstraktsioon ja seejärel jaotati saadud värvimislahus alikvootideks, mida kasutati kiudude värvimiseks erinevate peitsidega. Peale värvimist jaotati kiud kaheks, üks osa loputati värvimisejärgselt veega, teine asetati kohe kuivama. Loputamise ja mitteloputamise mõju avaldus ainult EEM spektrite intensiivsuses. Kuna pärandväärtusega proovide analüüsi uurimisobjektideks on erinevad kangad, mida suure tõenäosusega on aja jooksul korduvalt pestud, keskendutakse ja esitatakse selles töös edasi vaid värvimise järgselt loputatud kiudude EEM spektreid (vastav tähtsus koodis on a).

Saadud EEM spektreid (Joonis 8) võrreldes torkab esmalt silma emissiooni intensiivsuste erinevus. Intensiivsuse põhjal saab mõningasel määral hinnata peitsi ja värvimise efektiivsust, kui hästi peits suutis värvainet kiule kinnitada. Samas sõltub intensiivsus ka optilise sondi kaugusest proovis ja proovi paiknemisest sondi all. Seega on EEM spektrite võrdlemiseks sisukam kasutada emissioonimaksimumide asukohta ja maksimumi kuju. Mitmed EEM spektrid vereva vöödikuga värvitud kiududest näitasid, et spektrite spektraalne kuju on sarnane (väikesed nihked maksimumide lainepikkustes), kuid mõnede peitside (happelised peitsid näiteks) korral olid erinevused märkimisväärsed.

Peitsimata proovi korral (EM1a) on EEM spektril näha ümarat emissioonimaksimumi 570-690 nm juures, ergastuslainepikkuste vahemikus 350-490 nm. Näha on ka villa enda emissioonimaksimumi madalamatel ergastus- ja emissioonilainepikkuste väärtustel (370/430

nm). Varasemalt on välja toodud, et verevas vöödikus on põhilisteks fluorestseeruvateks ühenditeks emodiin ja dermorubiin, millede emissioonimaksimumid vesi-metanool lahuses asuvad emissioonilainepikkustel 510 nm ja 560-590 nm. Villakiududel registreeritud spektritelt on maksimumid kõrgematel lainepikkustel. EEM spektritelt, mille proovid on peitsitud maarjajää, maarjajää ja tartari segu ning valge maarjajääga on näha pikka emissioonimaksimumi piki ergastuslainepikkusi, vahemikus 590-690 nm, mis klappib maksimumi asukoha poolest peitsimata villa ja emodiiniga värvitud villa EEM spektritega. Nende peitsidega värvitud spektrid on üksteisest eristamatud oma sarnase EEM spektri kuju tõttu. Mainitud peitsid sisaldavad alumiiniumi katiooni, mis moodustab värvainega kompleksi ja seeläbi soodustab värvaine kinnitumist kiule. Eelpeitsimise (MD) ja värvimisega samaaegse peitsimise (M+D) mõju emissioonile avaldub ainult emissiooni intensiivsuse erinevuses, nagu võib näha EEM spektritelt KK2a ja KK3a (Joonis 8).

Vasksulfaadiga peitsitud proovi (KK7a) emissioonimaksimum on oma kujult sarnane peitsimata proovi emissioonimaksimumiga. Raudsulfaadiga peitsitud proovi (KK6a) spekter on kõikidest teistest täiesti erinev, kuigi villakiud on intensiivse punase värvusega (Tabel 2, Joonis 8) ja värvaine on villakiule korralikult kinnitunud, on emissioon praktiliselt olematu. Kirjanduses on välja toodud, et raudsulfaati kasutatakse väikestes kogustes, et värvitoone tumedamaks või pruunikamaks muuta [42]. Kirjanduses on ka viiteid sellele, et raudsulfaat kustutab või võimendab osade värvainete emissiooni [43, 44]. Sõltuvalt värvaine struktuurist võivad osad metalliioonid (näiteks  $Fe^{2+}$  ja  $Cu^{2+}$ ) põhjustada kompleksi emissiooni kustumist läbi orbitaalsete interaktsioonide, mille tõttu energianivoode vahe väheneb ja suureneb tõenäosus mittekiirguslikuks relaksatsiooniks. Samas, komplekseerumine  $Al^{3+}$  iooniga võimendab antrakinoonsete värvainete (alisariin, purpuriin, emodiin) emissiooni, mis on kooskõlas registreeritud EEM spektritega (KK2a, KK3a, KK4a ja KK5a) [43].



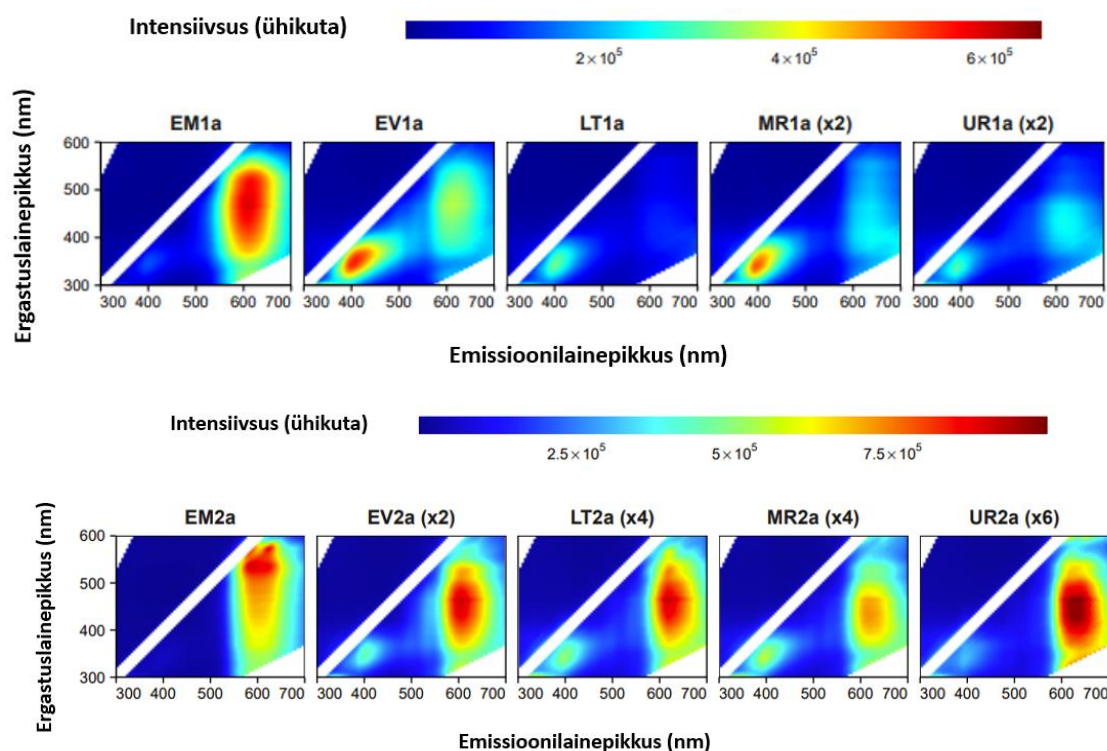
Joonis 8. EEM spektrid vereva vöödiku (KK) ja emodiiniga (EM) värvitud villakiududel peitsi mõju hindamiseks värvaine emissioonile. Number koodis tähistab värvimistehnikat/peitsi: 1- peitsimata, 2- maarjajää (MD), 3- maarjajää (M+D), 4- maarjajää+tartar (MD), 5- valge maarjajää (MD), 6- raud(II)sulfaat (MD), 7- vask(II)sulfaat (MD), 8- äädikhape (M+D), 9- oblikhape (M+D), 10- kääritsemine (M+D); a- kiud loputati veega peale värvimist. MD viitab esimesele värvimismeetodile ja M+D viitab teisele värvimismeetodile. Parema visualiseerimise jaoks korrutati mõne EEM spektrite intensiivsuses sulgudes märgitud faktoriga. Spektritelt eemaldati ergastuskiirguse ja Rayleigh'i hajuskiirguse piigid.

Happeliste peitsidega värvitud kiudude EEM spektrid on omavahel sarnased (KK8a, KK9a ja KK10a). Emissioonimaksimumid asuvad vahemikus 580-685 nm ja ergastuslainepikkuste vahemik on 350-550 nm. Äädikhappes peitsitud proovi (KK8a) emissioonimaksimum on mõnevõrra laiem, kui oblikhappes peitsitud proovi spektril (KK9a). Kui võrrelda happeliste peitsidega värvitud proove metallikomplekse sisaldavate proovidega, on näha kahte kõrvuti olevat suuresti kokku sulanud emissioonimaksimumi. Oblikhappes peitsitud proovi korral on näha, et lühemal lainepikkusel asuv maksimum on intensiivsem. Äädikhappes peitsitud proovi korral on pikemal lainepikkusel asuv maksimum intensiivsem. Kahte emissioonimaksimumi on eriti selgelt näha proovil, mida kääritati, kuid sellel proovil on ka villakiu enda emissioon

intensiivsem. Kääritatud proovi EEM spektris on kaks sarnase intensiivsusega maksimumi emissioonilainepikkuse vahemikus 580-680 nm ja ergastuslainepikkuse vahemikus 410-530 nm, maksimumide intensiivsused on sarnased.

#### **4.2.2. Värvaine kasvukeskkonna ja säilitusviisi mõju värvaine emissioonile**

Hindamaks, kas ja kui palju mõjutab värvaine päritolu ja säilitamisviis värvitud villa EEM spektreid, värviti villakiude erinevatest Eesti piirkondadest korjatud verevate vöödikutega. Lisaks varieeriti ka säilitamisviise (Tabel 2). Osa seeni olid külmutatud, kuivatatud või kasutati värvimiseks värskelt. Proovide värvimiseks kasutati ilma peitsita otsevärvimist ja eelpeitsiga värvimist. Eelpeitsina kasutati maarjajääd. Kõikide maarjajäaga peitsitud proovide korral olid spektrid sarnased (Joonis 9). Ergastusmaksimumid olid vahemikus 350-550 nm, kuid mõnel proovil võis see olla natuke kitsam. Peitsimata proovide korral olid spektrid juba rohkem eristatavad, nende kõigi korral olid emissioonimaksimumide kujud erinevad, kuid siin on kõigil näha ka villakiu enda emissioonimaksimumi. Esimese spektri korral (Joonis 9, MR1a) on näha nõrka emissioonimaksimumi 600-680 nm juures, ergastuslainepikkusel 350-550 nm. Selle proovi korral on näha, et maksimum on tihedam ja ühtlasem madalamatel ergastuslainepikkustel. Teise spektri korral (Joonis 9, EV1a) on emissioonimaksimum üleni ühtlane samades ergastus- ja emissioonilainepikkuste vahemikes nagu varem mainitud. Selle spektri korral on maksimum intensiivsem kui eelmisel, ning tundub, et maksimumitipp on kõrgemal ergastuslainepikkusel. Kolmanda spektri korral (Joonis 9, LT1a) ei ole emissioonimaksimumi peaaegu nähagi. Näha on ainult nõrgalt intensiivset maksimumi ergastuslainepikkusel 350-450 nm, kuid samadel emissioonilainepikkustel nagu varemgi. Viimase spektri (Joonis 9, UR1a) emissioonimaksimum on väga sarnane esimese värvimismeetodi KK1a proovi spektriga, kus on näha ilusat ümarat maksimumi ergastusvahemikus 350-500 nm ja emissioonilainepikkustel 590-680 nm.



Joonis 9. EEM spektrid erinevat päritolu vereva vöödikuga värvitud villakiududelt kasvukeskkonna ja säilitamisviisi mõju hindamiseks värvaine emissioonile. Number 1 koodis tähistab ilma peitsita värvimist ja number 2 tähistab maarjajää peitsi kasutamist. Tähed koodis tähistavad värvainet: EM- emodiin, EV- verev vöödik, Tartumaa, LT- verev vöödik, Võrumaa, MR- verev vöödik, Jõgevamaa, UR- Verev vöödik, Põhja-Eesti. Parema visualiseerimise jaoks korrutati mõne EEM spektrite intensiivsuses sulgudes märgitud faktoriga. Spektritelt eemaldati ergastuskiirguse ja Rayleigh'i hajuskiirguse piigid.

### 4.3. Pärandväärtusega proovid

#### 4.3.1. Pärandväärtusega proovide analüüs fluorestsentspektromeetria abil

Fluorestsentspektromeetria kasulikkuse näitamiseks viidi läbi kahe pärandväärtusega proovi fluorestsentsanalüüs. Saadud EEM spektreid võrreldi võrdlusproovide EEM spektritega. Proovid saadi Eesti konserveerimis- ja digiteerimiskeskusest Kanut ja nendeks olid piltvaip ning põrandavaip. Üheks prooviks oli 1547. aastal valmistatud piltvaip, mis kuulub Tallinna Linnamuuseumile. Teiseks prooviks oli 1930-ndatel tehtud põrandavaip, mis on saadud erakogust (fotot ja täpsemat kirjeldust ei õnnestunud saada). Neid proove ei analüüsitud otse näidistelt, vaid analüüsiti juba varasemalt analüüsideks võetud kiuproove. Peale fluorestsentsanalüüsi teostati pärandväärtusega proovidele ka kinnitav LC-MS analüüs, mille jaoks oli vaja väike kogus proovi ekstraheerida, et värvaine kätte saada.

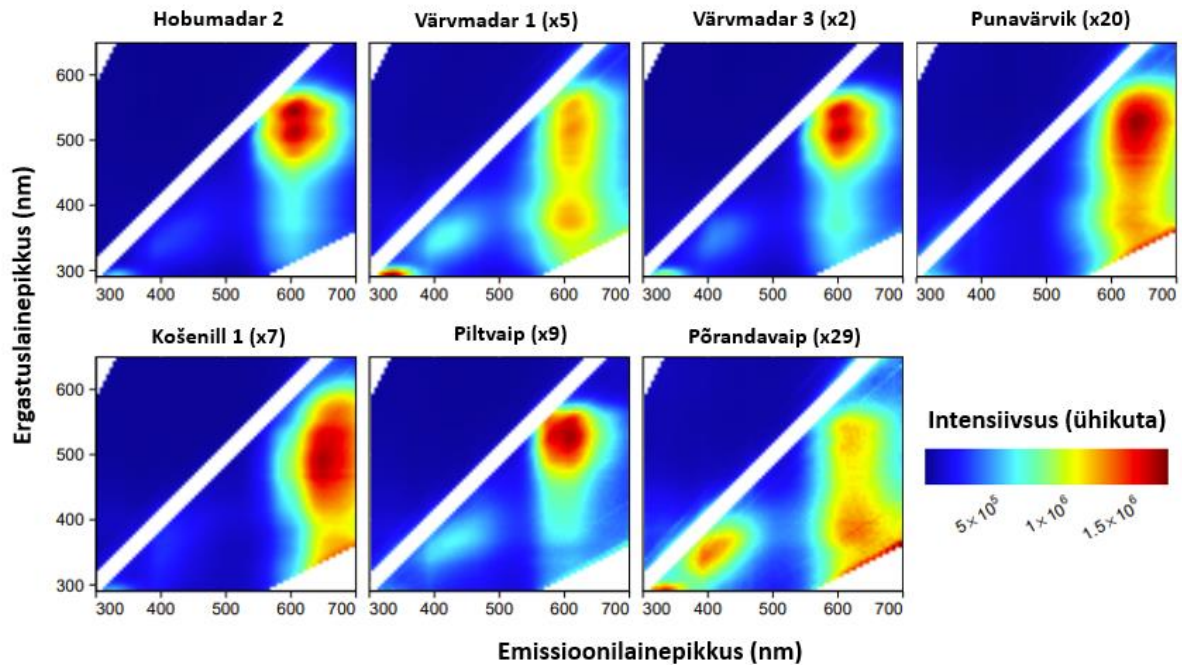


Joonis 10. Pärandväärtuse proovide näidised. A – piltvaip „Saalomoni pruuti vastu võtmas. Saalomoni kohus“, B – vapp piltvaibalt (noolega on toodud vapilt saadud roosakas villakiud), C – villakiud põrandavaibalt.

Mõlemad proovid on värvuselt punakad. Joonisel 11 on esitatud pärandväärtuse proovide ja neile kõige sarnasemate punaste võrdlusproovide EEM spektrid. EEM spektritelt (Joonis 11) on näha, et põrandavaiba korral on emissioonimaksimum vahemikus 575-650 nm ja kaks ergastusmaksimumi on 390 ja 520 nm juures. Piltvaiba korral oli emissioonimaksimumi lainepikkuse vahemikuks 550-625 nm ja ergastusmaksimumid 535 ja 400 nm juures. Mõlema proovi korral on spektril näha villa enda emissioonimaksimumi. Samuti võrreldes põrandavaiba EEM spektrit piltvaiba omaga, on näha, et põrandavaiba emissioonimaksimum on natukene punanihkes.

Nende pärandväärtusega proovide EEM spektrid on kõige sarnasemad punavärviku, hobu- ja värvmadaraga värvitud villakiudude EEM spektritele. Madarate *Rubiaceae* sugukonda kuuluvad taimed sisaldavad peamiste värvainetena alisariini ja purpuriini. Mõned teised varasemalt uuritud punased värvid, nagu siiltsesalpiinia ja sandlipuu, on võimalik kohe välistada, sest neil on teistsugune EEM spekter (Joonis 7). Kivi-lapiksambliku saab samuti välistada, sest sellel on üsna laiad emissioonimaksimumid. Hobu- ja värvmadar tunduvad enim sobivat piltvaibaproovi võrdlusproovideks. Põrandavaiba EEM spekter sarnaneb punavärvikuga värvitud võrdlusproovi spektrile, kuigi ka košenilliga värvitud kiudude EEM spektritelt on mõningaid sarnasusi põrandavaiba proovi EEM spektriga. Mistõttu on lisaks madaratele kinnitava meetodiga analüüsil lisatud proovide hulka košenilliga värvitud proov ja

košenillile iseloomulik karminhape referentsina. Piltvaiba korral on tõenäoline, et see proov on värvitud *Rubiaceae* sugukonda kuuluvate värvainetega. Põrandavaiba korral tundub samuti, et materjal on värvitud *Rubiaceae* sugukonda kuuluvate värvainetega.



Joonis 11. Pärandväärtusega proovide ja võrdlusproovide EEM spektrid. Parema visualiseerimise jaoks korrutati EEM spektrite intensiivsuses sulgudes märgitud faktoriga. Spektritelt eemaldati ergastuskiirguse ja Rayleigh'i hajuskiirguse piigid.

Sellegipoolest tuleb meeles pidada, et mitmete ajalooliste objektide korral võidi kasutada mitmeid värviallikaid koos, et saada soovitud toon. Seega, mida keerulisem on kromfooride ja fluorofooride segu proovis, seda keerulisem on fluorestsentspektromeetria abil nende tuvastamine. Keerulisemaks teeb analüüsimise ka lisandite ja saasteainete olemasolu proovis. Peale nende teevad ajalooliste objektide võrdluse võrdlusproovidega raskemaks ka võimalikud spektrite nihked, mis on tingitud ühendite lagunemisest valguse, niiskuse või hapniku mõjul. Üheks näiteks sellisest muutusest võib tuua punavärvikuga värvitud villakiu, mille korral on täheldatud purpuriini kontsentratsiooni suuremat vähenemist vananemise tõttu kui alisariini oma [45].

#### 4.3.2. Pärandväärtusega proovide kinnitav analüüs LC-MS meetodil

Kontrollimaks kas piltvaip ja põrandavaip on värvitud *Rubiaceae* sugukonda kuuluvate taimedega, kasutati kinnitava meetodina vedelikkromatograafia-massispektromeetria (LC-MS) meetodit. LC-MS analüüsitulemused (Tabel 3) kinnitasid, et mõlemas proovis on värvainete põhikomponendiks alisariin ja purpuriin. Peale nende tehti LC-MS analüüs võrdlusproovidele, mida oli värvitud värvmadara, hobumadara, punavärviku ja košenilliga. Need tulemused näitasid, et kõigis *Rubiaceae* sugukonda kuuluvates võrdlusproovides on samuti sees alisariin ja purpuriin. See toetab järeldusi, et pärandväärtusega proovides kasutati värvimiseks *Rubiaceae* sugukonda kuuluvaid taimi. Analüüsides proove fluorestsentspektromeetria abil, oletati, et põrandavaiba proovi värvides võidi, tõsi madalama tõenäosusega, kasutada ka košenilli. LC-MS tulemuste põhjal saab öelda, et košenilli ei kasutatud, sest proovides ei tuvastatud karminhapet, mis on põhiline košenillis sisalduv värvaine. Seega, kuigi fluorestsentspektromeetria on kasulik mittedestruktiivse meetodina esmaseks analüüsimiseks, tuleb meeles pidada piiranguid fluorofooride tuvastamisel, mis on spektraalselt sarnased. Siiski oli käesolevate proovide korral võimalik fluorestsentsanalüüsiga saada tulemused, mis seejärel leidsid kinnitust LC-MS analüüsi kaudu.

Tabel 3. LC-MS analüüsitulemused pärandväärtusega- ja võrdlusproovidest. Tabelis m/z tähistab molekuli massi ja sellele vastava laengu suhet ning  $t_R$  tähistab retentsiooniaega.

Proov	Karminhape (m/z 491; $t_R$ 21.2 min)	Alisariin (m/z 239; $t_R$ 34.4 min)	Purpuriin (m/z 255; $t_R$ 38.6 min)
Hobumadar 1	-	+	+
Hobumadar 2	-	+	+
Värvmadar 1	-	+	+
Värvmadar 2	-	+	+
Värvmadar 3	-	+	+
Košenill 1	+	-	-
Punavärvik	-	+	+
Põrandavaip	-	+	+
Piltvaip	-	+	+

## 5. KOKKUVÕTE

### Värvitud kiudude uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil

Elsa Vanker

Fluorestsentspektromeetria, nagu mitmed teised spektroskoopilised meetodid sobib värvitud villakiudude esmaseks analüüsimeetodiks. Päris mitmete värvainete EEM spektrid on küllaltki karakteristiklikud, et neid saaks kasutada reaalsetelt proovidelt värvainete esmaseks kiireks ja mittedestruktiivseks tuvastamiseks. Tõsi, päris iseseisvalt ei saa selle meetodiga kindlalt väita, millise värvainega mingi kindel kiud värvitud on, nii et vaja läheb ka kinnitavat analüüsi. Karakteristlikud EEM spektrid on näiteks košenilli või madaraliste (*Rubiaceae*) sugukonda kuuluvate värvainetega värvitud villakiududel. Selliste värvainete emissioonimaksimumid asuvad kõrgematel emissioonilainepikkustel piki ergastuslainepikkusi (emissioonilainepikkuse vahemik 550-650 nm), seega villakiu enda emissioon ei sega nende emissioonimaksimumide tuvastamist.

Samuti saab välja tuua, et kui analüüsida ühe ja sama värvainega (töös oli kasutusel verev vöödik) värvitud villakiude, millel on kasutatud erinevaid peitse, võivad kasutatud peitsid muuta spektrite väljanägemist. Kui värvimisel on kasutatud  $Al^{+3}$  ioonidel põhinevaid peitse, on näha nende EEM spektritel sarnast spektraalset karakteristiklust. Kuid kui on kasutatud näiteks  $Fe^{2+}$  ioonidega peitse, on EEM spektril olev emissioonimaksimum suurel määral kustutatud. Samuti tuleks mainida, et happelisi peitse kasutades saadakse veel omakorda erinevad EEM spektrid. Vereva vöödikuga värvides, tuli välja, et spektri emissioonimaksimumis asub sel juhul kaks kõrvuti asetsevat emissioonitippu.

Pärandväärtusega proove analüüsides sai nende EEM spektreid võrrelda võrdlusproovide spektritega ja leida spektraalseid sarnasusi. Püstitati hüpotees, et mõlemad reaalsed proovid on arvatavasti värvitud *Rubiaceae* sugukonda kuuluvate värvainetega. Selle kinnitamiseks teostati HPLC-MS analüüs, mis kinnitas hüpoteesi: mõlemas proovis sisaldus alisariini ja purpuriini, mis on tüüpilised *Rubiaceae* sugukonda kuuluvate värvainete komponendid.

Fluorestsentspektromeetria on värvitud villakiududelt värvainete tuvastamiseks võrreldes teiste analüüsimeetoditega mõnevõrra piiratud, ei ole nii spetsiifiline ega informatiivne, kuid mõeldes pärandväärtusega proovi analüüsimiseks, on see hea esmane meetod. Fluorestsentspektromeetria on kiire, seega saab palju rohkem proove analüüsida väiksema aja

jooksul. Ajalooliste objektide kontekstis on selle meetodi kõige tähtsam omadus võimalus uurida proove mittedestruktiivselt.

## 6. SUMMARY

### Analysing dyes using fluorescence spectrometry

Elsa Vanker

Fluorescence spectrometry, like several other spectroscopic methods, is suitable for preliminary analysis method for dyed wool fibers. There are quite a few EEM spectra of dyes that are sufficiently characteristic and can be used for fast and non-destructive preliminary identification of dyes from real samples. However, using only this method, it is not possible to say with certainty which dye a certain fiber is dyed with, so that a confirmatory analysis is needed. Characteristic EEM spectra are, for example, those of cochineal or wool fibers dyed with dyes from Rubiaceae family. The emission maxima of these dyes are located at higher emission wavelengths along the excitation wavelengths (emission wavelength range at 550-650 nm), so the emission of the wool fiber itself does not interfere with the detection of these emission maxima.

It can also be pointed out that if one analyses fibers that have been dyed with the same dye (blood-red webcap was used in this work) but with different mordants, these mordants can change the spectral appearance of the EEM. For example, if fibers are dyed using mordants that are based on  $Al^{3+}$  ions, these EEM spectra are going to be spectrally similar. However, if fibers are dyes using mordants with  $Fe^{2+}$  ions, the emission maximum on the EEM is significantly suppressed or even absent. It should also be noted that using acidic mordants for dyeing we can obtain different EEM spectra. For fibers dyed with blood-red webcap the emission maximum of the spectrum contains two adjacent emission peaks.

By analysing the culturally valuable samples, these EEM spectra could be compared with the spectra of reference samples, and we could find spectral similarities. It was hypothesized that the real samples used in this work were probably dyed with dyes belonging to the Rubiaceae family, so HPLC-MS analysis was performed. The chosen validation method confirmed the hypothesis, it was found that both real samples contained alizarin and purpurin.

Fluorescence spectrometry is somewhat limited for working with dyed wool fibers compared to other analytical methods, as it is not as specific or informative. However, it is a good preliminary method when analysing culturally important samples. Fluorescence spectrometry is a fast method, a lot of samples can be analysed in short timeframe, and most importantly, this

method allows for non-destructive analysis of samples, which is very important when working with historical objects.

## 7. KASUTATUD KIRJANDUS

1. Degano, I.; Ribechini, E.; Modugno, F.; Colombini, M. P. Analytical Methods for the Characterization of Organic Dyes in Artworks and in Historical Textiles. *Applied Spectroscopy Reviews*, **2009**, *44* (5), 363–410.
2. Jabar, J. M.; Ogunmokun, A. I.; Taleat, T. A. A. Color and Fastness Properties of Mordanted *Bridelia Ferruginea* B Dyed Cellulosic Fabric. *Fash Text*, **2020**, *7* (1), 1.
3. Bhute, A. S.; Prabhu, K. H. Plant Based Natural Dyes and Mordants: A Review. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, **2012**.
4. Roessler, A.; Jin, X. State of the Art Technologies and New Electrochemical Methods for the Reduction of Vat Dyes. *Dyes and Pigments*, **2003**, *59* (3), 223–235.
5. Rosenberg, E. Characterisation of Historical Organic Dyestuffs by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, **2008**, *391* (1), 33–57.
6. Ferreira, E. S. B.; Hulme, A. N.; McNab, H.; Quye, A. The Natural Constituents of Historical Textile Dyes. *Chem. Soc. Rev.*, **2004**, *33* (6), 329–336.
7. Sekar, N. 12 - Direct Dyes. In *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*; Clark, M., Ed.; Woodhead Publishing Series in Textiles; Woodhead Publishing, 2011; Vol. 1, pp 425–445.
8. Colombini, P. M. P.; Modugno, F. *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*; John Wiley & Sons, 2009.
9. Deveoglu, O.; Karadag, R. A Review on the Flavonoids -A Dye Source Doğal Boya Kaynağı -Flavonoidler Üzerine Derleme. **2019**.
10. Niskanen, T.; Liimatainen, K.; Ammirati, J. F.; Hughes, K. Cortinarius Section Sanguinei in North America. *Mycologia*, **2013**, *105* (2), 344–356.
11. Ramst, U. *Seentega Värvimine*; Eesti Loodusmuuseum, 2012.
12. Selberg, S.; Vanker, E.; Peets, P.; Wright, K.; Tshepelevitsh, S.; Pagano, T.; Vahur, S.; Herodes, K.; Leito, I. Non-Invasive Analysis of Natural Textile Dyes Using Fluorescence Excitation-Emission Matrices. *Talanta*, **2023**, *252*, 123805.
13. Herrala, M.; Yli-Öyrä, J.; de Albuquerque, A. F.; de Farias, N. O.; Morales, D. A.; Räisänen, R.; Freeman, H. S.; Umbuzeiro, G. A.; Rysä, J. Waterless Dyeing and In Vitro Toxicological Properties of Biocolorants from Cortinarius Sanguineus. *Journal of Fungi*, **2022**, *8* (11), 1129.
14. Räisänen, R.; Nousiainen, P.; Hynninen, P. Emodin and Dermocybin Natural Anthraquinones as Mordant Dyes for Wool and Polyamide. *Textile Research Journal*, **2001**, *71*, 1016–1022.
15. Räisänen, R. Fungal Colorants in Applications – Focus on Cortinarius Species. *Coloration Technology*, **2019**, *135* (1), 22–31.
16. Baldia, C. M.; Jakes, K. A. Photographic Methods to Detect Colourants in Archaeological Textiles. *Journal of Archaeological Science*, **2007**, *34* (4), 519–525.
17. van Bommel, M. R.; Berghe, I. V.; Wallert, A. M.; Boitelle, R.; Wouters, J. High-Performance Liquid Chromatography and Non-Destructive Three-Dimensional Fluorescence Analysis of Early Synthetic Dyes. *Journal of Chromatography A*, **2007**, *1157* (1), 260–272.
18. Armitage, R. A.; Day, C.; Jakes, K. A. Identification of Anthraquinone Dye Colourants in Red Fibres from an Ohio Hopewell Mound Site by Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry. *STAR: Science & Technology of Archaeological Research*, **2015**, *1* (2), 1–10.
19. Karapanagiotis, I.; Chryssoulakis, Y. Investigation of Red Natural Dyes Used in Historical Objects by HPLC-DAD-MS. *Annali di Chimica*, **2006**, *96* (1–2), 75–84.
20. Papanastasiou, M.; Allen, N.; McMahon, A.; Naegel, L.; Edge, M.; Protopappas, S. Analysis of Indigo-Type Compounds in Natural Dyes by Negative Ion Atmospheric Pressure Photoionization Mass Spectrometry. *Dyes and Pigments*, **2012**, *92*, 1192–1198.






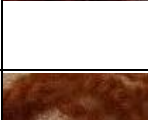

21. Maynez-Rojas, M. A.; Casanova-González, E.; Ruvalcaba-Sil, J. L. Identification of Natural Red and Purple Dyes on Textiles by Fiber-Optics Reflectance Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2017**, *178*, 239–250.
22. Tamburini, D.; Dyer, J. Fibre Optic Reflectance Spectroscopy and Multispectral Imaging for the Non-Invasive Investigation of Asian Colourants in Chinese Textiles from Dunhuang (7th-10th Century AD). *Dyes and Pigments*, **2019**, *162*, 494–511.
23. Introduction to Fluorescence. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2006; pp 1–26.
24. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Principles of Instrumental Analysis*; Thomson Brooks/Cole, 2007.
25. Derrick, M.; Newman, R.; Wright, J. Characterization of Yellow and Red Natural Organic Colorants on Japanese Woodblock Prints by EEM Fluorescence Spectroscopy. *Journal of the American Institute for Conservation*, **2017**, *56* (3–4), 171–193.
26. Simpson, W. S.; Crawshaw, G. *Wool: Science and Technology*; Elsevier, 2002.
27. Hearle, J. W. S.; Morton, W. E. *Physical Properties of Textile Fibres*; Elsevier, 2008.
28. Houck, M. M. *Identification of Textile Fibers*; Elsevier, 2009.
29. Deshpande, S. D. Ecofriendly Dyeing of Synthetic Fibres. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, **2001**, *26*, 136–142.
30. Haar, S.; Schrader, E.; Gatewood, B. M. Comparison of Aluminum Mordants on the Colorfastness of Natural Dyes on Cotton. *Clothing and Textiles Research Journal*, **2013**, *31* (2), 97–108.
31. Barrios, D.; Prieto, C. RJSplot: Interactive Graphs with R. *Molecular Informatics*, **2018**, *37* (3), 1700090.
32. Bunn, A. G. A Dendrochronology Program Library in R (DplR). *Dendrochronologia*, **2008**, *26* (2), 115–124.
33. Fox, J. The R Commander: A Basic-Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistical Software*, **2005**, *14*, 1–42.
34. The Maiwa Guide to Natural Dyes <https://naturaldyes.ca/instructions> (accessed Apr 25, 2023).
35. Hartl, A.; Proaño Gaïbor, A. N.; van Bommel, M. R.; Hofmann-de Keijzer, R. Searching for Blue: Experiments with Woad Fermentation Vats and an Explanation of the Colours through Dye Analysis. *Journal of Archaeological Science: Reports*, **2015**, *2*, 9–39.
36. Vajanto, K. Dyes and Dyeing Methods in Late Iron Age Finland. *Värit ja värjäysmenetelmät Suomessa rautakauden lopulla*, **2016**, 192.
37. Daniels, V.; Devière, T.; Hacke, M.; Higgitt, C. *Technological Insights into Madder Pigment Production in Antiquity*; 2014.
38. Harrison, M. M.; Tyler, A. C.; Hellquist, C. E.; Pagano, T. Phenolic Content of Invasive and Non-Invasive Emergent Wetland Plants. *Aquatic Botany*, **2017**, *136*, 146–154.
39. Mancilla-Leytón, J. M.; Joffre, R.; Martín Vicente, A. Effect of Grazing and Season on the Chemical Composition of Mediterranean Shrub Species in Doñana Natural Park, Spain. *Journal of Arid Environments*, **2014**, *108*, 10–18.
40. Peets, P.; Vahur, S.; Kruve, A.; Haljasorg, T.; Herodes, K.; Pagano, T.; Leito, I. Instrumental Techniques in the Analysis of Natural Red Textile Dyes. *Journal of Cultural Heritage*, **2020**, *42*, 19–27.
41. Clementi, C.; Basconi, G.; Pellegrino, R.; Romani, A. Carthamus Tinctorius L.: A Photophysical Study of the Main Coloured Species for Artwork Diagnostic Purposes. *Dyes and Pigments*, **2014**, *103*, 127–137.
42. Burkinshaw, S. M.; Kumar, N. The Mordant Dyeing of Wool Using Tannic Acid and FeSO<sub>4</sub>, Part 1: Initial Findings. *Dyes and Pigments*, **2009**, *80* (1), 53–60.









43. Manian, A. P.; Paul, R.; Bechtold, T. Metal Mordanting in Dyeing with Natural Colourants. *Coloration Technology*, **2016**, *132* (2), 107–113.
44. Reiser, A. How Complexing with a Small Number of Transition Metal Ions Can Prevent Dye Fading. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2013**, *12* (5), 738–742.
45. Clementi, C.; Nowik, W.; Romani, A.; Cibin, F.; Favaro, G. A Spectrometric and Chromatographic Approach to the Study of Ageing of Madder (*Rubia Tinctorum* L.) Dyestuff on Wool. *Analytica Chimica Acta*, **2007**, *596* (1), 46–54.





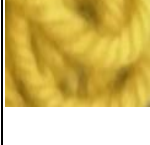





## **8. LISAD**


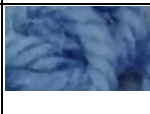






## Lisa 1

Tabel 4. Erinevad analüüsitud proovid

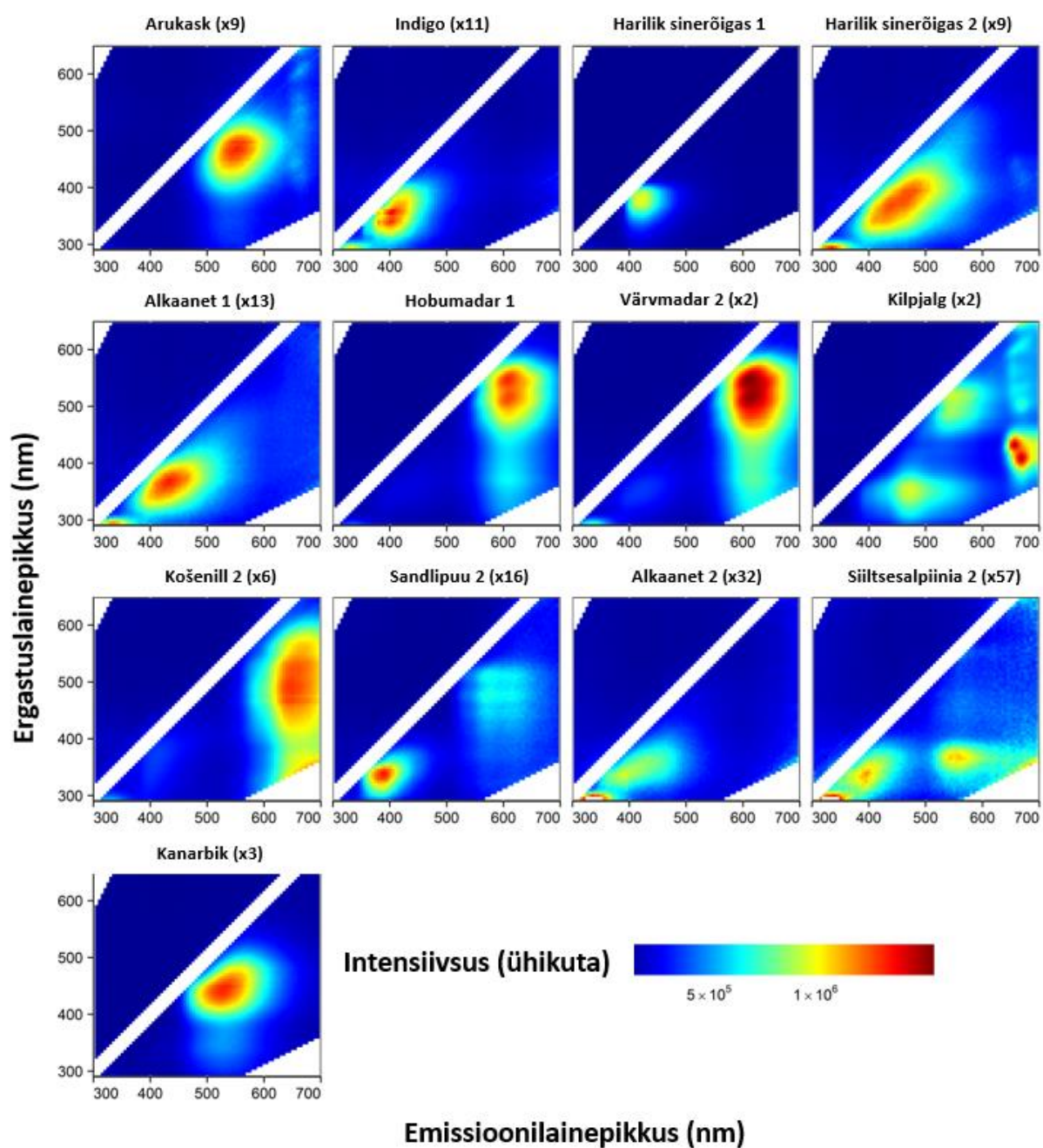
Värviallikas	Meetod/peitsid /kommentaariid	Fluorestsentsi informatsioon: ergastus/emissioonimaksimum (nm) ja karakteristiklikkus <sup>e</sup>	Foto
Siiltsesalpiinia 1 ( <i>Caesalpinia echinata</i> ) <sup>b</sup>	Keedetud vees tund aega	330/385, 370/550 EEM on karakteristiklik, aga nõrga intensiivsusega	
Siiltsesalpiinia 2 ( <i>Caesalpinia echinata</i> ) <sup>b</sup>	Keedetud vees tund aega	340/395, 370/545 EEM on karakteristiklik, aga nõrga intensiivsusega	
Košeniil 1 ( <i>Dactylopius coccus</i> ) <sup>b</sup>	Keedetud vees 40 minutit	485/650 EEM on karakteristiklik	
Košeniil 2 ( <i>Dactylopius coccus</i> ) <sup>b</sup>	Keedetud vees 40 minutit	490/645 EEM on karakteristiklik	
Punavärvik ( <i>Rubia tinctorum</i> ) <sup>a</sup>	Keedetud kääritatud kolla värvivannis	530/630 EEM on karakteristiklik, sarnaneb madaratega, kuid omab ainult ühte emissioonipiiki ja on punanihkes	
Kivi-lapiksamblik ( <i>Parmelia saxatilis</i> ) <sup>a</sup>	Keedetud ilma peitsita	530/605 EEM on karakteristiklik	
Värvimadar 1 ( <i>Galium boreale</i> ) <sup>a</sup>	Värsked juured, korjatud Aprillis; keedetud maarjajää peitsiga	365/600, 515/610 EEM on karakteristiklik, omab teistsugust emissioonitippude intensiivsuste suhet kui teised madarad	

Värvmadar 2 ( <i>Galium boreale</i> ) <sup>a</sup>	Värsked juured; korjatud Juulis; keedetud maarjajää lahuses; peitsilahuse esimene kasutamine	510/605, 545/610 EEM on karakteristik, sarnane hobumadarale	
Värvmadar 3 ( <i>Galium boreale</i> ) <sup>a</sup>	Värsked juured; korjatud Juulis; keedetud maarjajää lahuses; peitsilahuse teine kasutamine	510/600, 540/600 EEM on karakteristik, sarnane hobumadarale	
Hobumadar 1 ( <i>Galium verum</i> ) <sup>a</sup>	Värsked juured; keedetud maarjajää lahuses; peitsilahuse esimene kasutamine	515/610, 545/605 EEM on karakteristik, sarnane värvmadarale	
Hobumadar 2 ( <i>Galium verum</i> ) <sup>a</sup>	Värsked juured; keedetud maarjajää lahuses; peitsilahuse teine kasutamine	510/605, 545/605 EEM on karakteristik, sarnane värvmadarale	
Sandlipuu 1 ( <i>Pterocarpus santalinus</i> ) <sup>b</sup>	Keedetud	365/430, 480/570 EEM on karakteristik	
Sandlipuu 2 ( <i>Pterocarpus santalinus</i> ) <sup>b</sup>	Leotatud etanoolis; keedetud etanoolis tund aega	340/390, 480/580 Emissioonimaksimumi emissioon nõrgem kui vees keedetud proovil	
Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Maarjajää ja äädikhappe peitsiga	490/610 EEM on karakteristik, sarnane verev vöödikule peitsitud maarjajääga	
Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Maarjajää peitsiga	500/605 EEM on karakteristik	

Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Tina(II)kloriid peits	500/605 EEM ei ole karakteristlik	
Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Peitsita	345/400, 490/610 EEM on natuke karakteristlik, esimene maksimum on villakiu maksimumi asukohas	
Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Oblikhappe peits	500/600 EEM ei ole karakteristlik	
Verev vöödik ( <i>Cortinarius sanguineus</i> ) <sup>c</sup>	Äädikhappe peits	500/600 EEM ei ole karakteristlik, sarnaneb oblikhappe ja tinakloriidiga peitsitud verev vöödikule	
Kanarbik ( <i>Calluna vulgaris</i> ) <sup>a</sup>	Värsked taimed; keedetud maarjajääs	440/530 EEM ei ole karakteristlik, sarnaneb arukasele	
Värvisafloor ( <i>Carthamus tinctorius</i> ) <sup>b</sup>	Leotatud 4 tundi värvilahuses	520/570 EEM on karakteristlik	
Harilik ungrukold ( <i>Huperzia selago</i> ) <sup>a</sup>	Kääritatud 10 päeva, ilma peitsita	360/445 EEM on pigem karakteristlik, kuid natuke sarnane värvimata villakiule	
Arukask ( <i>Betula pendula</i> ) <sup>a</sup>	Värsked lehed; keedetud maarjajääs	470/550 EEM ei ole karakteristlik	
Hulgalehine lupiin ( <i>Lupinus polyphyllus</i> ) <sup>a</sup>	Värsked lillad lilled; keedetud maarjajääs	375/430 EEM on karakteristlik, kuid maksimum asub villa enda emissioonimaksimumil	
Kilpjalg ( <i>Pteridium aquilinum</i> ) <sup>a</sup>	Keedetud ilma peitsita	355/465, 430/655, 515/540 EEM on väga karakteristlik kolme emissioonimaksimumiga	

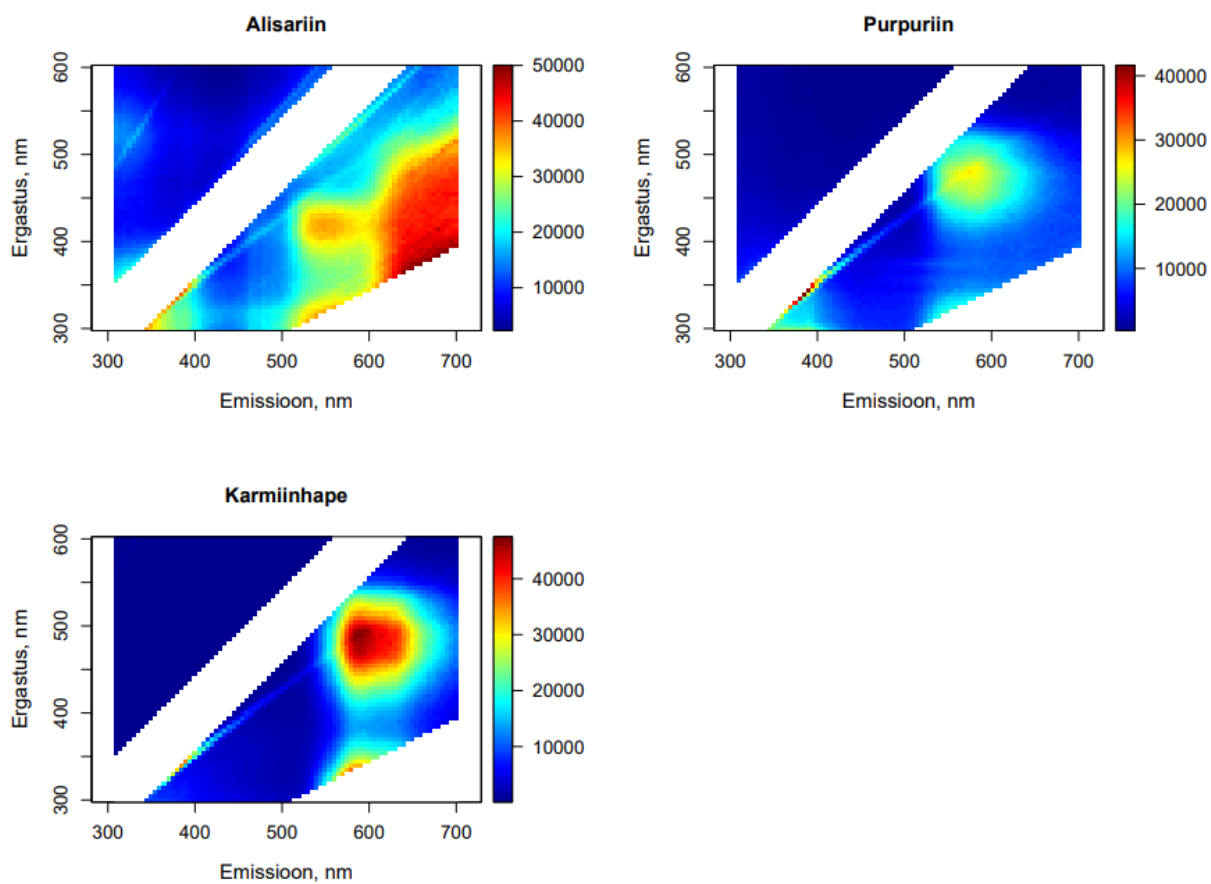
Metsosi ( <i>Equisetum sylvaticum</i> ) <sup>a</sup>	Värsked taimed; keedetud ilma peitsita	340/435, 520/545 EEM on karakteristiklik	
Indigo ( <i>Tropical indigo</i> ) <sup>a</sup>	Naatriumditioniit, sooda	340/405 EEM sarnaneb värvimata villakiule	
Harilik sinerõigas 1 ( <i>Isatis tinctoria</i> ) <sup>a</sup>	Värsked lehed; uriinivann; puutuhavesi	375/425 EEM sarnaneb värvimata villakiule	
Alkaanet 2 ( <i>Alkanna tinctoria</i> ) <sup>b</sup>	Leotatud etanoolis; keedetud etanoolis 2 tundi	335/390 EEM ei ole karakteristiklik, sarnaneb värvimata villakiule	
Alkaanet 1 ( <i>Alkanna tinctoria</i> ) <sup>b</sup>	Leotatud vees üks nädal; keedetud 2 tundi	370/435 EEM ei ole karakteristiklik, sarnaneb värvimata villakiule	
Sinerõika lehed 2 ( <i>Isatis tinctoria</i> ) <sup>a</sup>	Värsked lehed; keedetud maarjajääs	380/460 EEM ei ole karakteristiklik ja nõrga intensiivsusega	
<b>Pärandväärtusega proovid</b>			
Põrandavaip <sup>d</sup>	Valmistatud 1930ndatel; saadud erakogust		
Piltvaip <sup>d</sup> “Saalomoni pruuti ootamas. Saalomoni kohus“ (TLM 8460)	Valmistatud 1547 aastal Enghien-is; proov võeti vapilt		

## Lisa 2



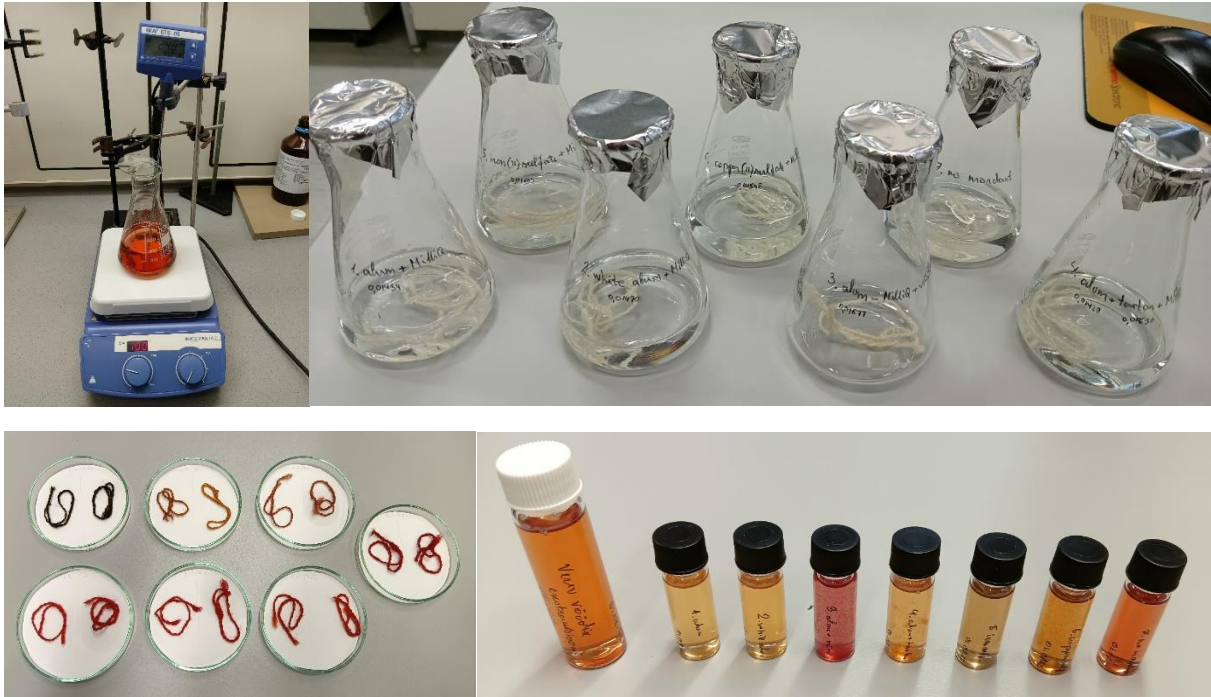
Joonis 12. Võrdlusproovide EEM spektrid. Parema visualiseerimise jaoks korrutati mõne EEM spektrite intensiivsuses sulgudes märgitud faktoriga. Spektritelt eemaldati ergastuskiirguse ja Rayleigh'i ja hajuskiirguse piigid.

### Lisa 3.



Joonis 13. Tahkete referentsainete EEM spektrid

## Lisa 4



Joonis 14. Esimene värvimine verev vöödikuga: esimesel pildil värvilahuse ekstraktioon, teisel villakiud peitsilahustes, kolmandal värvitud villalõngad ja neljandal lõpplahused.

## Lisa 5

Tabel 5. Kasutatud peitside kogused

Nr	Peits	Peitsikogus (% WoF)	MilliQ veekogus [ml]	Värvilahuse kogus [ml]
1	Maarjajää	15	30	-
2	Valge maarjajää	15	30	-
3	Maarjajää	15	-	-
4	Maarjajää + <i>cream of tartar</i>	15+5	30	-
5	Raud(II)sulfaat	15	30	-
6	Vask(II)sulfaat	15	30	-
7	Peitsita	-	30	-
8	Äädikhape	15	-	40
9	Oblikhape	15	-	40
10	Maarjajää	15	-	40

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Elsa Vanker,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose Värvitud kiudude uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil, mille juhendajateks on Ivo Leito ja Sigrid Selberg, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguste kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates **23.05.2025** kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Elsa Vanker

**23.05.2023**