

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Elsa Vanker

**Pigmentide ja värvainete uurimine fluorestsentspektromeetria
meetodil**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Keemia

Juhendajad Teadur Sigrid Selberg, PhD

Prof Ivo Leito, PhD

Tartu 2021

INFOLEHT

Pigmentide ja värvainete uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil

Käesolevas töös uuriti erinevate pigmentide, nii sideainega kui ilma, ja värvainetega värvitud villakiudude proovide fluorestsentsispektreid, et selgitada välja, mil määral on fluorestsentspektromeetria meetod kasutatav ühe meetodina aitamaks pigmente ja värvaineid tuvastada. Tulemuste hindamiseks koostati saadud andmetest programmiga R ergastus- ja emissioonimaatriksid, millelt saab näha, kas ja kui intensiivselt proov fluorestseerib, kus asub(vad) proovi emissioonimaksimum(id) ja kui karakteristikud on spektrid. Pigmentide tuvastamiseks see meetod pigem ei sobi, sest spektrid ei ole piisavalt karakteristikud ja sideaine segab mõõtmist liiga palju. Tekstiilikiududele kantud värvaineid on selle meetodiga parem analüüsida, sest enamasti villa enda emissioon ei sega mõõtmisi. Sellegipoolest ei saa ainult fluorestsentspektromeetria abil kindlalt öelda, mis värvainega on tegu ja seetõttu tuleks kaasata tuvastamiseks ka teisi meetodeid.

Märksõnad: fluorestsentspektromeetria, pigmendid, sideained, värvained, EEM

Analysing pigments and dyes using fluorescence spectrometry

In the present study, the fluorescence spectra of pigments, with and without binders, and of dyed wool fibers were analysed to see the extent to which the fluorescence spectrometry can be used as one method to help identify pigments and dyes. To evaluate the results, excitation and emission matrices (EEM) were composed from the obtained data, which showed whether and how intensely the samples fluoresce, where the emission maxima are located and how characteristic are the spectra. The method is not suitable for the identification of pigments because the spectra are not sufficiently characteristic and the binder interferes with the measurement too much. The method is more suitable for the identification of dyes because wool's own emission does not interfere with the measurement. However, fluorescence spectrometry alone is not characteristic enough to be able to determine which specific dye has been used and other methods should also be included.

Keywords: fluorescence spectrometry, pigments, binders, dyes, EEM

SISUKORD

1.	SISSEJUHATUS	5
2.	KIRJANDUSE ÜLEVAADE	6
2.1.	Fluorestsentspektromeetria	6
2.1.1.	Klassikaline (<i>right-angle</i>) ja mitte-läbiv geomeetria (<i>front-face</i> meetod)	8
2.1.2.	EEM (ergastus- ja emissioonmaatriks)	8
2.1.3.	Varasemad fluorestsentspektromeetria ja EEM rakendused	9
2.2.	Teised meetodid värvainete määramiseks	11
2.3.	Pigmendid	12
2.4.	Sideained ja lakid	13
2.5.	Värvitud villakiud	15
2.5.1.	Kollased värvained	15
2.5.2.	Punased värvained	16
2.5.3.	Rohelised värvained	17
2.5.4.	Sinised värvained	18
2.6.	Peitsid	18
2.7.	Programm R	19
3.	EKSPERIMENTAALNE OSA	20
3.1.	Kasutatud aparatuur	20
3.2.	Pigmentide analüüs fluorestsentspektromeetriaga	20
3.2.1.	Uuritud pigmendid koos sideainega	21
3.2.2.	Uuritud pigmendid pulbri kujul	21
3.3.	Uuritud sideained	22
3.4.	Villakiududele kantud tekstiilivärvid	22
3.4.1.	Villakiudude värvimiseks kasutatud värvained ja taimed	22
3.5.	EEM spektrid	23
4.	TULEMUSED JA ARUTELU	24
4.1.	Ülevaade tulemustest	24
4.2.	Sideainete ja lakkide analüüs	27
4.3.	Puhaste pigmentide analüüs	29
4.4.	Pigmendid koos sideainega	30
4.5.	Värvitud villakiudude analüüs	32
4.5.1.	Kordusmõõtmised	36

4.6. Fluorestsentspektroskoopia ja teised meetodid pigmentide ja tekstiilivärvide identifitseerimisel.....	38
5. KOKKUVÕTE	40
6. SUMMARY.....	41
7. KASUTATUD KIRJANDUS.....	42
8. LISAD	46

1. SISSEJUHATUS

Kultuuriväärtuste uurimine on tähtis, et saada informatsiooni, milline on kasutatud materjalide keemiline koostis, milliste meetodite abil neid valmistati, kuidas nad ajas muutuvad. Kui on teada, milliseid ühendeid ja materjale on kultuuriobjektidel kasutatud, saame hinnata kultuuriobjekti vanust ja geograafilist päritolu. Sellise informatsiooni saamiseks on reeglina vaja kasutada mitut erinevat meetodit, sest enamik meetodeid üksinda ei anna piisavalt informatsiooni.

Kultuuriväärtustel kasutatud pigmentide ja värvainete analüüsimiseks on mitmeid erinevaid meetodeid. Mõned meetodid on sellised, millega saab objekte kohe analüüsida, ilma eelneva prooviettevalmistuseta, näiteks Raman spektromeetria, infrapunaspktromeetria, röntgenfluorestsentspektromeetria jt. Lisaks on olemas meetodid, mille jaoks on vajalik proovi eeltöötlus, näiteks tuleb proov lahustada solvendis või viia gaasifaasi. Sellisteks meetoditeks on näiteks vedelikkromatograafia, gaasikromatograafia jt. Kõigil neil meetoditel on omad puudused. Enamik meetodeid on destruktiivsed, st vajavad proovi võtmist. Ja nii mõnedki nõuavad, et proovid peavad olema lahuse kujul. Seetõttu sellised meetodid sageli ei ole vastuvõetavad haruldaste või hinnaliste objektide analüüsimiseks. Usaldusväärse tulemuse saamiseks on kõige parem moodus kombineerida erinevaid meetodeid.

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida ja „kaardistada“ fluorestsentspektromeetria võimalusi pigmentide ja värvainete määramisel kultuuriväärtuslikest objektidest kasutades vahetult objektide pinnalt mõõdetud spektreid. Sellisel moel kasutades on meetod mittedestruktiivne, mis on suur eelis. Samas on fluorestsentspektromeetria kui meetod vahetult tahkise pinnalt mõõtes olnud kultuuriväärtuste analüüsis pigem alakasutatud ja puudub selge ülevaade, mis on täpsemalt selle meetodi kasutusvõimalused ja piirangud. Sellise ülevaate saamine ongi käesoleva töö põhiliseks eesmärgiks.

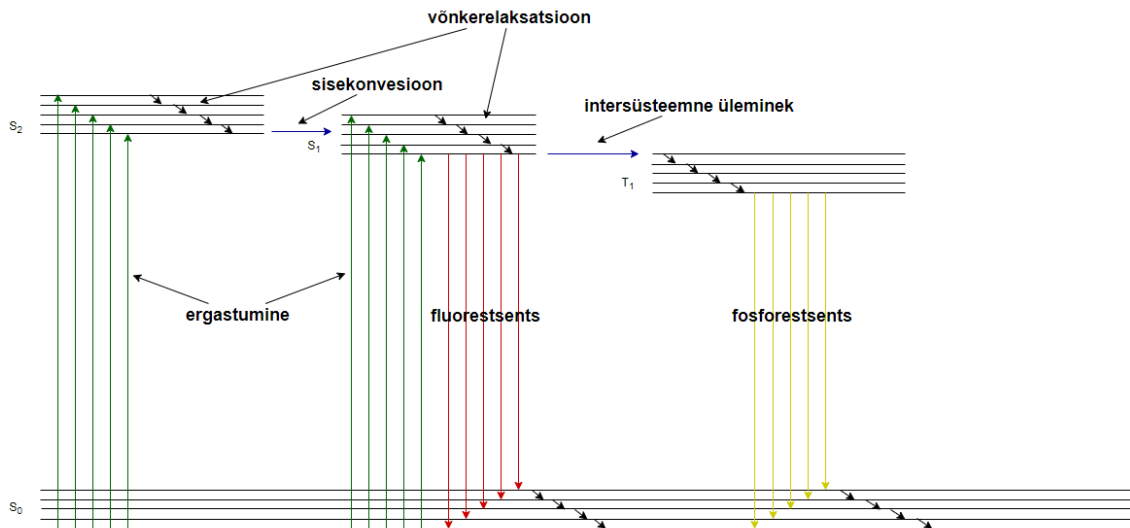
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

2.1. Fluorestsentspektromeetria

Fluorestsentspektromeetria on optilise spektromeetria meetod, mille abil uuritakse ühendi fluorestsentsi intensiivsust sõltuvalt ergastava ja/või emiteeritava kiirguse lainepikkusest. Fluorestsentsi esilekutsumiseks molekul ergastatakse, tavaliselt UV (ultraviolettkiirgus)- või nähtava kiirgusega. Sobivatel tingimustel relakseerub ergastatud molekul kiirguslikult ehk fluorestseerib.

Fluorestsentspektromeetrias peab molekul ergastamiseks neelama footoni, võrreldes fluorestsentsi tekkega on see kiire protsess (karakteristlik aeg 10^{-14} - 10^{-15} s). Enamasti ergastub molekul algolekust S_0 mõnele ergastatud oleku kõrgemale vibratsiooni alamnivoole näiteks $S_0 \rightarrow S_1^2$ (Joonis 1). Alaindeksiga märgitakse ergastusnivood, ülaindeksiga märgitakse võnkenivood kindlal ergastusnivool. Sealt edasi võib toimuda kaks kiiret protsessi, olenevalt millisele nivoole molekul oli ergastatud. Kui molekul on ergastatud olekusse S_1^2 siis, et olekusse S_1^0 jõuda toimub võnkerelaksatsioon, kuid kui molekul on olekus S_2 siis toimub sisekonversiooni üleminek olekusse S_1 . Need mõlemad on kiirguseta üleminekud [1].

Edasiseks relaksatsiooniks põhiolekusse S_0 on neli võimalust: sisekonversioon, väliskonversioon, fluorestsents ja intersüsteemne üleminek olekusse T_1 , millele järgneb fosforestsents. Väliskonversiooni korral põrkub ergastatud osake solvendi molekulidega või mõne muu molekuliga ning annab oma energia ära ja relakseerub põhiolekusse. Nii väliskonversioon kui ka sisekonversioon on kiirguseta üleminekud, mille karakteristikud ajad võivad olenevalt molekuli struktuurist varieeruda suurtes piirides (10^{-6} - 10^{-12} s). Peale sise- ja väliskonversiooni võib algolekusse relakseerumiseks toimuda fluorestsents (karakteristlik aeg 10^{-6} - 10^{-12} s). Erinevalt eelmistest nimetatud võimalustest on fluorestsents kiirguslik üleminek, mille käigus molekul kiirgab footoni. Viimaseks relaksatsiooni võimaluseks algolekusse on intersüsteemse üleminek, mille korral läheb osake singletsest olekust (S_1) üle tripletsele olekusse (T_1), selle ülemineku toimumise jaoks peab sobiv tripletne olek eksisteerima ja nende kahe oleku võnkealamnivood peavad olema energeetiliselt lähedased. Ergastatud tripletsest olekust algolekusse relaksatsioon võib toimuda kas kiirguseta ülemineku või fosforestsentsi kaudu (karakteristlik aeg 10^2 - 10^6 s) [1]. Joonise 1 peal on toodud Jablonski diagramm, mis illustreerib ergastumist ja erinevaid võimalusi relaksatsiooniks.



Joonis 1. Jablonski diagramm

Fluorestsentsiga konkureerib mittekiiruslik relaksatsioon. Eelistatult toimub see protsess, mille karakteristik aeg on lühem. Selleks, et fluorestsents saaks domineerida, peab molekul olema jäik. Sellisel molekulil on vähem võimalusi mittekiiruslikuks relaksatsiooniks võnkumise teel ja seeläbi saab kõrgema tõenäosusega toimuda kiiruslik relaksatsioon. Jäigad molekulid on enamjaolt tasapinnalised, sisaldavad aromaatsid tuumi ja kordseid sidemeid. Fluorestsentsi tõenäosus suureneb, kui molekulis on elektrodoonorsed rühmad, näiteks metoksü- või aminorühm. Et molekul saaks üldse ergastuda peab ta neelama UV või nähtavas piirkonnas. UV alas omavad intensiivseid neeldumismaksimume paljud molekulid, kuid nähtavas spektrialas mitte. Nähtav piirkond asub pikematel lainepikkustel alates umbes 350 nm. Selles piirkonnas omavad neeldumisi molekulid, mis sisaldavad kinoidset või kumariini fragmenti, samuti paljud metallikompleksid [1].

Fluorestsentspektromeetria eelisteks on meetodi madalad avastamisiirid (10^{-6} - 10^{-9} suurusjärgus), instrument on miniaturiseeritav ja kaasaskantav, sellega on võimalik analüüsida mittedestruktiivselt ning tema rakendusala on piiratud, saab määrata fluorestseerivaid aineid mittefluorestseerivate ainete juuresolekul, mis tõstab meetodi selektiivsust. Meetodit saab kasutada ka vedelikkromatograafias detektorina. Meetodi mittedestruktiivsus on tähtis kui analüüsitakse näiteks kunstiobjekte, sest see võimaldab uurida hinnalisi esemeid neid kahjustamata. Fluorestsentspektromeetrial on ka puuduseid. Enne sai mainitud, et üheks eeliseks selle meetodiga on, et rakendusala on piiratud, kuid see on ka puuduseks, sest enamik ühendeid ei fluorestseeri ning fluorestsentspektromeetria saab selliste ühendite uurimiseks kasutada vaid siis, kui neid eelnevalt derivatiseerida, mis on aga töömahukas, võib analüüsi

sisse tuua täiendavaid vigu ning kaotab mittedestruktiivsuse eelise. Lisaks on fluorestsentspektromeetria mõnevõrra kapriisne ja keeruline meetod võrreldes näiteks UV-Vis neeldumisspektromeetriaga. Klassikalise, 90-kraadise geomeetriaga, fluorestsentspektromeetria korral peab arvestama lahuse kontsentratsioonist tulenevate primaarse ja sekundaarse sisefiltratsiooni efektidega, hapniku kustutava toimega, samuti mõnede muude nähtustega, nagu näiteks FRET (Försteri ehk fluorestsentsresonantsenergia ülekanne). Sisefiltratsiooniefektid seisnevad selles, et proovilahuse kõrge kontsentratsiooni korral neelatakse nii ergastavat kiirgust kui ka tekkivat fluorestsentskiirgust lahuses olevate uuritava aine ja lisandite osakeste poolt ja detektorisse jõudev signaal on seeläbi madalama intensiivsusega [1].

2.1.1. Klassikaline (*right-angle*) ja mitte-läbiv geomeetria (*front-face* meetod)

Klassikalise, 90-kraadise geomeetria korral läbib ergastav kiirgus filtri või monokromaatori, millega eraldatakse huvipakkuv ergastuslainepikkus või ergastuslainepikkuste vahemik. Peale seda suunatakse ergastuskiirgus proovile, kiirgus neeldub proovis olevates osakestes ja edasi saab toimuda kiirguslik relaksatsioon – fluorestsents. Tekkinud emissioon registreeritakse detektoriga, mis asetseb proovile peale langenud ergastuskiirguse suhtes 90-kraadise nurga all, et vähendada ergastava kiirguse jõudmist detektorisse. Enne detektorisse jõudmist läbib kiirgus emissioonilainepikkuse valimiseks filtri või monokromaatori. 90-kraadist geomeetriat kasutatakse lahjade ja selgete lahuste korral [1].

Mitte-läbiv geomeetria kasutab fluorestsentsi mõõtmiseks optilisi fiibreid. Proov ergastatakse kiirgusallikast tuleva kiirguse abil, mis läbib monokromaatori ja liigub mööda ühte fiibrit analüüsitava proovini. Proovist emiteeruv kiirgus läheb mööda teist fiibrit edasi detektorisse. Nii ergastamiseks kasutatav kui ka emiteeruva kiirguse fiibrid asuvad paralleelselt samas sondis. Erinevus klassikalise meetodiga seisneb selles, et ergastuskiirgus ei läbi proovi. Ergastamine ja emissiooni registreerimine toimub ainult proovi pinnalt. Mitte-läbivat meetodit kasutatakse eelkõige kõrge neelduvusega lahuste ja läbipaistmatute tahkete proovide korral [1]. Kuna proovi lahustamine ja eeltöötlus ei ole vajalikud, võimaldab selline meetod teostada mittedestruktiivset analüüsi.

2.1.2. EEM (ergastus- ja emissioonmaatriks)

Ergastus- ja emissioonmaatriksi registreerimise korral kogutakse emissiooni etteantud lainepikkuste vahemikus varieerides ergastuslainepikkusi. Kogutud info abil saab täieliku ülevaate proovi fluorestsentsi kohta, mida esitatakse 2D või 3D kontuurgraafikutel. EEM

graafikute registreerimine on oluline eelkõige proovide jaoks, mis sisaldavad erinevaid fluorestseerivaid komponente. Erinevad proovi komponendid võivad vajada ergastumiseks erineva lainepikkusega kiirgust ja ka tekkinud emissioonimaksimumid võivad asuda erinevatel lainepikkustel [2]. Tänapäeval kasutatakse EEM järjest rohkem vee kvaliteedi analüüsimiseks, kõige rohkem just kromofoorse lahustuva orgaanilise aine (CDOM) määramiseks. Sellisteks aineteks on näiteks mõned aminohapped, humiinhapped, fulvohapped ja muud vees lahustuvad ained [3].

EEM spektritelt saab palju informatsiooni ühendite fluorestsentsi kohta. Spektritelt näeb, kus kohas asuvad emissioonimaksimumid ning kui intensiivsed need on. Samuti saab spektrite abil teada, millised ergastuslainepikkused on kõige sobivamad proovi komponentide ergastamiseks. Fluorestsentsi intensiivsus sõltub ühendi kontsentratsioonist kui ka kvantsaagisest. Kvantsaagis on ühendi poolt emitteeritud footonite ning neelatud footonite suhe. Mida kõrgem on kvantsaagise väärtus, seda kõrgem on fluorestsentsi intensiivsus [3]. Lahuste korral alguses kontsentratsiooni kasvades intensiivsus kasvab, kuid teatud hetkest alates hakkab intensiivsus kahanema sisefiltratsiooni efekti tõttu [4]. Tahkete ainete pinnalt mõõdetud fluorestsentsi korral tuleb kontsentratsiooni all mõista kontsentratsiooni pinnal. Sisefiltratsiooni efekti selliselt mõõtes ei esine. Kvantsaagis on aga samamoodi oluline, nagu ka lahuste mõõtmisel.

Traditsioonilise geomeetriaga skaneerivatel fluoromeetritel esineb EEM registreerimisel mitmesuguseid limiteerivaid aspekte. Üheks suurimaks neist on see, et kõrgematel kontsentratsioonidel esinevad sisefiltratsiooni efektid. Teiseks puuduseks on, et proovi analüüsimiseks on kõigepealt vaja proovi eeltöötlemist, ei saa analüüsida tahkeid ega väga kontsentreeritud proove. Viimaseks, ühekanalilised instrumendid on aeglased ja selle tõttu on limiteeritud ka EEM andmemah, mida ühe päevaga saab kätte [3].

2.1.3. Varasemad fluorestsentspektromeetria ja EEM rakendused

Varasemalt on uuritud mitte-läbiva geomeetriaga fluorestsentspektromeetria meetodil näiteks ekstra neitsioliiviõli kvaliteeti, kas oliiviõlile on juurde lisatud erinevaid seemneõlisisid [5]. Seda meetodit kasutades on õli analüüs võrdlemisi lihtne ja kiire, sest proovi lahustamine ja igasugune muu eeltöötlus ei ole vajalik. Viidatud uurimistöös leiti, et ekstra neitsioliiviõli emissioonimaksimumid asuvad 380 nm madalamatel ja 550 nm kõrgematel lainepikkustel, mis kuuluvad põhiliselt erinevatele klorofüllide derivaatidele. Teiste seemneõlide emissioonimaksimumid asuvad 400 nm juures, mis kuuluvad suuresti linoolhappele ja

tokoferoolile. Kui ekstra neitsioliiviõlile oli juurde lisatud sojaoast valmistatud õli, klorofüllile vastava emissioonimaksimumi intensiivsus kahanes ja lisatud sojaõlile vastavate emissioonimaksimumide intensiivsused kasvasid [5].

Peale selle on veel ka uuritud erinevaid kunstiobjektides kasutatavaid värvipigmente fluorestsentspektroskoopia meetodi abil [6, 7]. Teades varaseid andmeid, kuidas kindlad pigmendid fluorestseerivad, kasutati fluorestsentspektromeetriat, et tuvastada huvipakkuvaid pigmente uuritavatelt kunstiobjektidelt.

Näiteks üheks uuritavaks kunstiobjektiks oli Piet Mondriani poolik teos „*Victory Boogie-Woogie*“, seda teost uurides tuvastati mitmeid erinevaid kasutatud pigmente, mis koosnesid kaadmiumist, seleenist, tsingist, titaanist ning baariumist [6].

Peale värvipigmentide on fluorestsentspektromeetria abil uuritud ka erinevaid tekstiilivärve. Näiteks on uuritud gobeläänide valmistamisel kasutatud värvaineid. Mitmes artiklis on näiteks uuritud ortseiini (samblikes sisalduv värvaine) emissiooniintensiivsusi lina- ja villakiul [8, 9]. Ühes artiklis on näidatud, kuidas keskkonna pH väärtus mõjutab ortseiini värvitooni. Happelisemas lahuses on neelduvusspektrid madalamatel lainepikkustel. Samuti on artiklis kirjeldatud, kuidas erinev tekstiilikiud, mida värvitakse, ning vanandamine võivad mõjutada värvaine emissioonimaksimumi kuju ja intensiivsust [8]. Teises artiklis on uuritud peale ortseiini ka indigo emissioonispektreid. Ortseiini puhul täheldati, et värvaine on valguse suhtes tundlik. Artiklis uuriti gobelääne esiküljelt, kuhu paistab valgus pidevalt peale, ning tagaküljelt, kuhu valgus ligi ei saa. Leiti, et ortseiini korral oli emissiooni intensiivsus madalam gobelääni esiküljel, kuid indigo korral oli emissiooni intensiivsus samasugune nii esi- kui ka tagaküljel, mis tähendab, et indigo värvaine on fotokeemiliselt stabiilne [9]. Kolmandas artiklis uuriti erinevate mehhaaniliste ja keemiliste töötluste mõju värvaine fluorestsentsile villakiul. Uuriti *Acacia nilotica* emissioonispektreid, pärast värvitud villakiu mitmekordset pesemist, kiiritamist ksenoonlambiga ning pärast erinevate peitside kasutamist. Tulemustest oli näha, et pestes ja kiiritades värvainega värvitud villakiu emissioonimaksimumi intensiivsus langes, kuid erinevate peitsidega see hoopis tõusis. Värvaines leiduv fluorofoor moodustab koos peitsis oleva metalli katiooniga kompleksi, millel on kõrgem kvantsaagis ja intensiivsem emissioon [10].

Artiklite põhjal on järeldatud, et fluorestsentspektromeetria on tundlik, usaldusväärne, mittedestruktiivne meetod. Fluorestsentspektromeetriat kasutades saab mõõtmisi teostada ilma igasuguse proovi ettevalmistuseta ja portatiivselt, proovi ei pea analüüsima laboris.

Fluorestsentspektromeetria on kirjanduse andmete kohaselt pigmentide ja värvainete analüüsil rakendust leidnud, kuid pigem piiritletult, kas ühe värvaine või värvainete rühma raames, või on kasutatud läbivat geomeetriat (*right angle*) ja proovi lahustamist. Samas on kirjanduses täheldatud, et ainult fluorestsentspektrometrilise meetodiga ei saa kindlalt öelda, mis pigmendi või värvainega on tegu.

2.2. Teised meetodid värvainete määramiseks

Fourier' teisendusega infrapunasektromeetria (FT-IR)

FT-IR meetodi plussideks, eriti, kui kasutatakse nõrgendatud täielikku sisepeegeldust (ATR-FT-IR) proovilt spektri registreerimiseks, on mõõtmiste kiirus ning väikesed proovikogused [11]. Selle meetodi üheks peamiseks puuduseks on, et proovile peab avaldama üpriski kõrget survet, mis võib proovi kahjustada, kuid samas on mõõteala piisavalt väike, et proovi üleüldine kvaliteet ei pruugi väga palju kannatada. ATR-FT-IR mikrospektromeetria võimaldab saada kõrge kvaliteediga spektreid ka väikestest proovidest [12].

Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia (HPLC)

Kõrgefektiivse vedelikkromatograafia meetodiga saab määrata mitmeid erinevaid värvainete klasse, näiteks flavonoide, indigoide, antrakinoone, karotenoide jm [13]. Selle meetodi tugevuseks on suutlikkus detekteerida orgaanilisi ühendeid väikestes kogustes ja keerulistes proovimatriksites [14]. HPLC meetodi suurimateks puudusteks on meetodi destruktiivsus ja vajadus proov lahustada. Lisaks on sageli raske leida puhtaid standardeid tundmatutele proovidele [15].

Üheks levinumaks meetodiks on HPLC-UV-Vis, mille puuduseks on madal tundlikkus ning madala spetsiifilisusega UV-Vis neeldumisspektrid, mille tõttu on vaja täiendavat informatsiooni värviproovide kohta. Peale UV-Vis on detektorina kasutusel ka MS (massispektromeeter). Võrreldes teiste detektoritega suudab MS eraldada ioonid massi ja laengu suhte järgi ning mõõdab iga iooni hulga. Mille tõttu annab MS detektor rohkem informatsiooni [16]. Erinevalt mitmetest meetoditest, millega saab mõõta tahkeid proove, on vaja HPLC meetodiga proovi eeltöödelda, proov peab olema täielikult lahustatud [17].

Raman spektromeetria

Raman spektromeetria abil on võimalik kõrge lahutusvõimega analüüsida väga väikesi proove, kui proovivõtutarvikuna kasutatakse mikroskoopi. Raman spektromeetria sobib anorgaaniliste pigmentide mittedestruktiivseks määramiseks [18]. Orgaaniliste värvainete jaoks see meetod

pigem ei sobi [18]. Peamised põhjused, miks Raman spektromeetria ei sobi orgaaniliste värvainete tuvastamiseks, on orgaaniliste värvainete nõrk Raman signaali intensiivsus (madal tundlikkus) ning tugev fluorestseeriv taust laserergastamisel, mis summutab nõrga Raman signaali [19].

Skaneeriv elektronmikroskoopia koos energiadiispersiivse spektroskoopiaga (SEM-EDS)

SEM-EDS (skaneeriv elektronmikroskoopia koos energiadiispersiivse spektroskoopiaga) meetodit kasutatakse, et teostada erinevate pinnakatete (nagu värvikihid) analüüse. EDS on elementanalüüsi meetod ja SEM tagab võimaluse saada info lokaalselt väga väikestel pinna osadel leiduvate elementide kohta. SEM-EDS meetodiga saab teada, mis elemendid on proovi pinnal ning kui suures hulgas. Meetod on eriti kasulik pigmentide määramiseks, sest erinevad pigmendid sisaldavad kindlaid iseloomulikke elemente, mõni näiteks sisaldab väikeses hulgas koobaltit pliid või kaadmiumi, teine jälle ei sisalda. SEM-EDS on hea meetod ka selleks, et määrata metallipõhiseid peitse tekstiilikiududes [20]. Erinevalt fluorestsentspektromeetriast tuleb SEM-EDS meetodiga analüüsimiseks võtta mikroproove, proov peab juhtima voolu, vastasel juhul tuleb lisada materjal, mis juhib, ning proovid saavad olla kuitahes väikesed, peaasi et inimene suudaks neid käsitseda [21].

2.3. Pigmendid

Pigmente liigitatakse orgaanilisteks ja anorgaanilisteks, looduslikeks ja sünteetilisteks. Pigmente saab eraldi veel klassifitseerida värvi, päritolu ja nende keemilise koostise alusel [22].

Anorgaanilised pigmendid on koostise poolest oksiidid, sulfiidid, kromaadid, sulfaadid, karbonaadid ja fosfaadid. Lisaks on mõned metallid, nagu kuld, pigmentidena kasutatavad puhtal kujul. Anorgaanilised pigmendid on vees vähem lahustuvad kui orgaanilised pigmendid, taluvad paremini kõrget temperatuuri ja valgust (ei tuhmu) ning on odavamad. Kuigi nad säilitavad enda värvi pika aja jooksul, ei ole nende pigmentide värvi kvaliteet nii hea kui orgaanilistel pigmentidel [22].

Orgaanilised pigmendid koosnevad peamiselt orgaanilistest molekulidest, kuid vahel kasutatakse anorgaanilisi ühendeid orgaanilistes pigmentides stabilisaatoritena. Orgaanilisi pigmente toodetakse loomade verest või uriniist (india kollane), taimedest ja köögiviljadest (alisariin värvmadarast) või sünteetiliselt aromaatsetest süsivesinikest (indigosinine). Enamik orgaanilisi pigmente on erksad. Enamjaolt ei kasutata orgaanilisi pigmente üksinda, vaid koos anorgaanilistega [23].

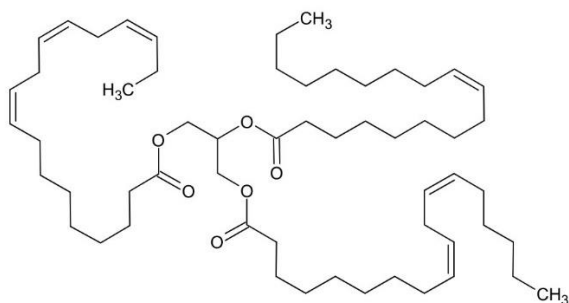
2.4. Sideained ja lakid

Sideaine on vedel või pool vedel aine, mis segatakse pigmendiga pigmendi osakeste kooshoidmiseks. Sideaine peab pigmendi osakesi märgama ja mõistliku aja jooksul kuivades moodustama kileja värvikihi. Sideaine fikseerib pigmendi osakesed ja kaitseb pigmenti vananemise eest, et pigmendi värvus säiliks kauem [24].

Linaseemneõli

Linaseemneõli sisaldab kõige rohkem alfa-linoleenhapet (umbes 60%), tavaliselt on taimsetes õlides alfa-linoleenhapet oluliselt vähem, umbes 25%. Linaseemned sisaldavad 26-45% õli. Umbes 70% toodetud linaseemneõlist on tehniliseks kasutuseks ja ülejäänud on kasutusel toiduainetööstuses. Linaseemneõli kasutatakse näiteks PVC plastides, lakkides, korrosiooni tõrjeks ja värvides ning toiduainetööstuses aroomiainetes [25].

Linaseemneõli on laialdaselt kasutatud sideainena, sest linaseemneõli kuivab ja moodustab kileja kihi kiiremini kui teised õlid. Linaseemneõli kuivamisel õhuhapniku juuresolekul muutub linaseemneõli koostis. Õlis sisalduvate küllastumata hapete kaksiksidemed reageerivad õhus leiduva hapnikuga ja üksteisega, et moodustada polümeervõrgustik, mille tulemusena muutub muidu küllaltki vedel õli tahkeks [26]. Joonisel 2 on linaseemneõli üks näidisstruktuur võimalikust molekulist, mis koosneb linoolehapest, alfa-linoleenhapest ja oleiinhapest.



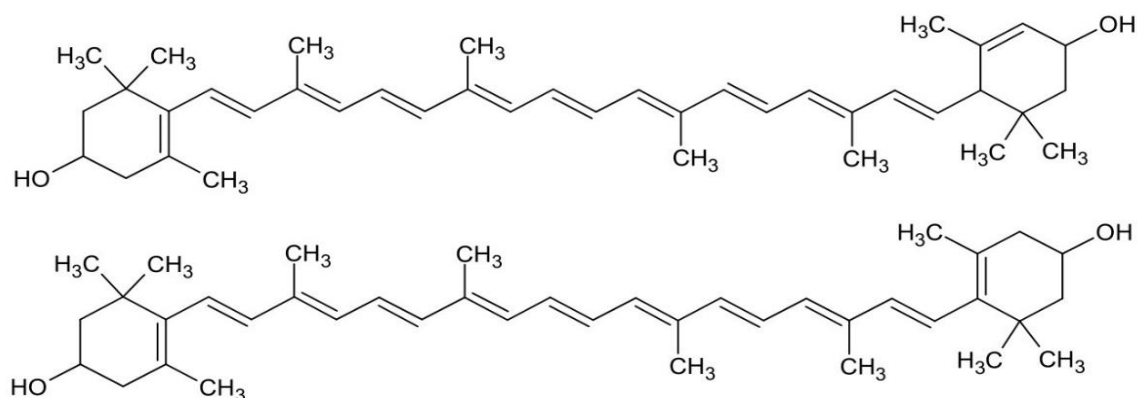
Joonis 2. Linaseemneõli näidisstruktuur

Munakollane

Munakollane on poolläbipaistmatu sideaine, mida saab kasutada läbipaistvana nagu vesivärvid või siis peaaegu läbipaistmatuna nagu guaššid [27].

Kui värvi valmistatakse segatakse kokku pigment, vajadusel täiteained ja veega lahjendatud munakollane. Kui pigment koos munakollasega on täiesti ära kuivanud on segu veekindel ja kõva. Üheks miinuseks seda käsitledes ongi, et munakollane kuivab kiiresti ja kui see on ära

kuivanud, ei ole seda võimalik enam kasutada [27]. Munakollases sisalduvate luteiini ja zeaksantiini struktuurid on toodud Joonisel 3. Nii luteiin kui zeaksantiin sisaldavad rohkelt (vastavalt 10 ja 11) konjugeeritud kaksiksidemeid, mistõttu on intensiivne emissioon ootuspärane. Intensiivne emissioonimaksimum asub emissioonilainepikkusel umbes 525 nm [28].



Joonis 3. Luteiini ja zeaksantiini struktuurid

Munavalge

Munavalget on sideainena kasutatud juba alates keskajast. Et munavalget saaks sideainena kasutada, tuleb seda alguses kloppida, et tekiks voolav mass, mida saab segada pigmendiga. Vahel lisatakse munavalgele juurde nelgiõli või mett, et värvid oleksid erksad ja läikivad [27]. Munavalge sisaldab ovalbumiini, kuid võib sisaldada ka luteiini ja zeaksantiini nagu munakollane, kuid väiksemates kogustes.

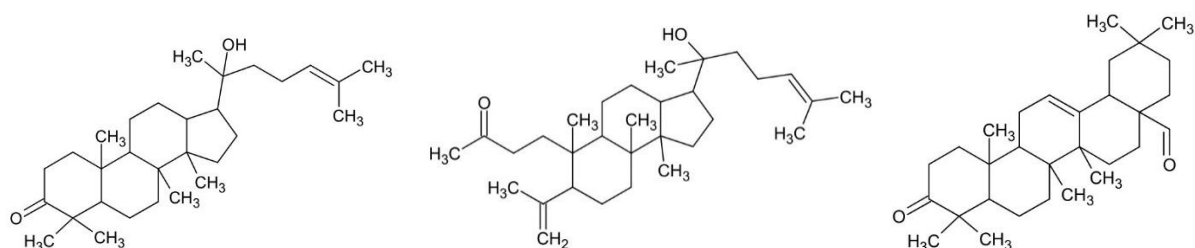
Munavalge tahenemist põhjustab valgu molekulide polümerisatsioon valguse ning õhu hapniku toimel [29].

Dammaravaik

Dammaravaik on tahke looduslik triterpenoidne vaik, mida kasutatakse peamiselt lakina, kuid seda saab kasutada ka sideainena. Dammaravaigul on head optilised omadused (valguskindel ja heleda tooniga). Aja jooksul muutub dammaravaik tuhmiks, kollakamaks ja hapramaks. Mistõttu tuleb aja möödudes vana lakikiht maalilt eemaldada ja asendada uuega, kuid seda tehes võib maali kvaliteet halveneda [30].

Aja jooksul toimub dammaravaigus oksüdatsioon, millega kaasneb algühendite osaline polümerisatsioon ja lagunemine. Kuna dammaravaigus on palju erinevaid triterpenoide võib moodustada mitmeid uusi ühendeid [30].

Dammaravaik sisaldab dammaraani seeriast tetratsükilisi triterpenoide ja väheses koguses pentatsükilisi triterpenoide olanaani, ursaani ja hopaani seeriast [30]. Joonisel 4 on toodud põhilised ühendid, mida dammaravaik sisaldab hüdroksüdammarenoon, dammarenoolhape ja oleanoonaldehüüd [31]. Need ained ise ei fluorestseeri, kuid nendega aja jooksul toimuvate keemiliste muundumiste tulemusena võivad tekkida ained, mis fluorestseerivad.



Joonis 4. Hüdroksüdammarenooni, dammarenoolhappe ja oleanoonaldehüüdi struktuurid

2.5. Värvitud villakiud

Üks inimesele teadaolevaid vanimaid kiude on vill. Vill erineb teistest kiududest oma omaduste poolest: tõrjub vett, tugev, elastne, vastupidav hapetele ja alustele (kontsentreeritud happed ja alused siiski kahjustavad kiudu) [32].

Villakiud koosneb põhiliselt keratiinist, mis omakorda koosneb valkudest, mille koostises on paljud aminohapped, mis on peptiidsidemetega seotud [33]. Aminohappeid, mis fluorestseerivad on ainult kolm, trüptofaan, türosiin ja fenüülalaniin, need on kõik hüdrofoobsed ning aromaatsed aminohapped. Villavalgu (α -keratiini) emissioonimaksimum on intensiivne ja asub emissioonilainepikkuste vahemikus 400-550 nm [34].

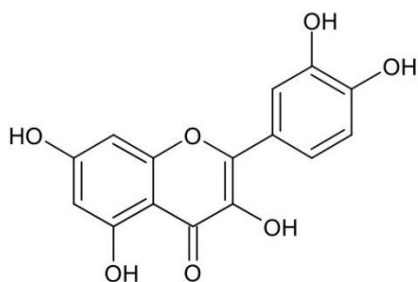
Allpool on toodud ülevaade erinevatest looduslikest värvainetest, millega olid käesolevas töös villakiud värvitud.

2.5.1. Kollased värvained

Arukask (ingl *silver birch*, lad *betula pendula*)

Arukask võib kasvada kuni 30 m kõrguseks ning tema koor on sile ja hõbedane. Kõige rohkem kasutatakse kaske kütmise eesmärgil, vineeride tegemiseks ning mõnes kohas ka joogi valmistamiseks (toonik, õlu, siirup) [35].

Arukase põhikomponentideks on tselluloos, hemitselluloos ja ligniin, väikses koguses leidub ka mineraalseid ning ekstraheerivaid ained. Ligniin koosneb põhiliselt kolmest fenüülpropaani monomeerist: p-hüdroksüfenüül, guaiatsüül ja süringüül [36]. Põhiline ühend, mis annab arukase lehtedele tema värvi ja fluorestseeriva toime on kvartsetiin (Joonis 5) [37].

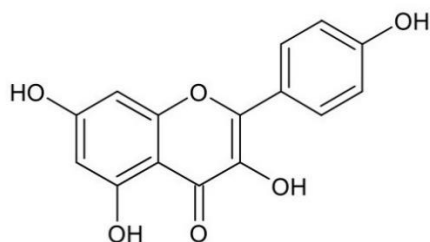


Joonis 5. Kvertsetiini struktuur

Kanarbik (ingl *heather*, lad *calluna vulgaris*)

Kanarbikku kasutatakse väga palju rahvameditsiinis, on leitud, et kanarbik on põletikuvastane, antimikroobne, antioksüdant ja ensümaatiliselt inhibeeriva toimega, kuid peale selle kasutatakse kanarbikku ka maitseainena, näiteks mees.

Kanarbik sisaldab fenoolühendeid, triterpenoide (ursool- ja oleanoolhape) ja aminohappeid. Värvivateks ühenditeks kanarbikus on kvertsetiin ja kaempferool [38], mille struktuurid on toodud Joonisel 5 ja 6.



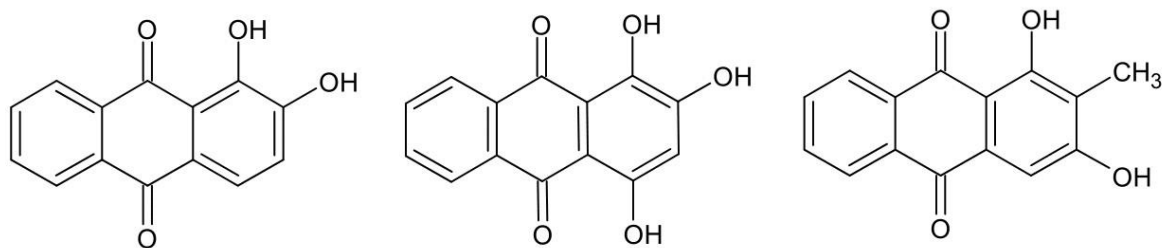
Joonis 6. Kaempferooli struktuur

2.5.2. Punased värvained

Hobumadar (ingl *lady's bedstraw*, lad *galium verum*)

Hobumadar on mitmeaastane taim, mis kasvab 60-120 cm kõrguseks. Taime lehed on tume rohelised, samas kui õied on kuldkollased. Hobumadarat on kasutatud mitmete haiguste raviks ning veel ka piima kalgendamiseks tänu ensüümile, mida hobumadara koostises leidub [39].

Hobumadar sisaldab mitmeid erinevaid ühendeid: parkained, triterpeeni ühendid, eeterlikke õlisid, orgaanilisi happed, karotenoide, flavonoide jt [40]. Hobumadara põhiliste värvi andvate ja fluorestseerivate ühendite, alisariini, purpuriini ja rubiadiini [41] struktuurid on toodud Joonisel 7.



Joonis 7. Alisariini, purpuriini ja rubiadiini struktuurid

Värvmadar (ingl *northern bedstraw*, lad *galium boreale*)

Värvmadar on hobumadara sugukonnast, mis kasvab 20-80 cm kõrguseks. Kasutatakse tee tegemiseks, ravi otstarbel ning taime juurtest saab valmistada punast värvi [42].

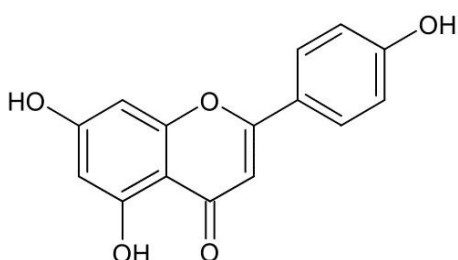
Värvmadar sisaldab flavonoide, iridoide, eeterlikke õlisid, antrakinoone, alkaloide, C-vitamiini jt [43]. Nagu hobumadara korral, on ka värvmadara põhilisteks värvaineteks alisariin, purpuriin ja rubiadiin (Joonis 7), aga ka muud sarnased antrakinoonil põhinevad värvained [21].

2.5.3. Rohelised värvained

Hulgalehine lupiin (ingl *garden lupin*, lad *lupinus polyphyllus*)

Lupiin on mitmeaastane taim, mis võib kasvada kuni 1,5 m kõrguseks. Kõige rohkem kasutatakse lupiini aedades, ta on võimeline mesilasi lähedale meelitama ning aitab parandada liivamuldi, sest on hea lämmastiku sidumisvõimega [44].

Hulgalehise lupiini fluorestsentsivõime ja värvi annab apigeniin [45], mille struktuur on toodud Joonisel 8.



Joonis 8. Apigeniini struktuur

Kilpjalg (ingl *bracken*, lad *pteridium aquilinum*)

Kilpjalg on maailmas üks laialdasemalt levinud sõnajalg, mis kasvab nii parasvöötmes kui ka troopilistes piirkondades. Kilpjala lehti antakse loomadele söödaks ning osades riikides tehakse

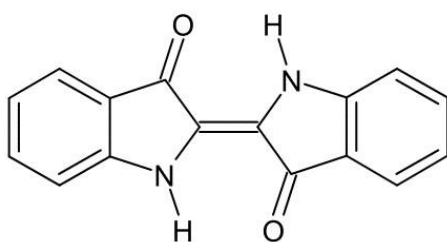
neist süüa, kuid nad sisaldavad mitmeid mürgiseid ja kantserogeenseid ühendeid, mis on nii loomadele kui ka inimestele kahjulikud [46].

Kilpjalg sisaldab kõige rohkem holotselluloosi, alfa-tselluloosi ja ligniini, peale neid on järgmisel kohal ekstraheerivad ained [47]. Värv ja fluorestsentsivõime annavad kilpjalale mitmesugused flavonoidid, eeskätt kvartsetiin (Joonis 5) [48]. Seejuures on oluline nii vaba kvartsetiin kui ka selle kompleksid peitside koostisse kuuluvate metalliionidega [49].

2.5.4. Sinised värvained

Indigosinine (ingl *indigo*, woad)

Indigosinist (Joonis 9) kasutati Aasias maalide ja riiete värvimiseks. Värv saamiseks tuli alguses taimi leotada ja lasta neil käärida, peale seda segu kuivatati ja peenestati pulbriks, et pigmendina kasutada. Tänapäeval kasutatakse sünteetilist indigosinist rohkem kui looduslikku, sünteesi protsessi avastas Baeyer 1880. aastal. Indigosinine on keemiliselt väga vastupidav, ei lahustu vees, alkoholis, eetris ega soolhappes, kuid päikesevalguse käes võib kaotada oma värvi [22].



Joonis 9. Indigo struktuur

Sinerõigas (ingl *woad*, lad *isatis tinctoria*)

Keskajast 18. sajandini oli sinerõigas kõige tähtsam indigo (Joonis 9) värvi allikas Euroopas. Peale 18. sajandit kasutati seda vähem, sest leiti teised odavamad indigo saamise allikad. Nagu hobumadarat ja värvmadarat kasutati ka sinerõigast rahvameditsiinis, nii haavade, haavandite, maohammustuste kui ka erinevate põletike raviks [50].

Sinerõigas sisaldab lisaks indigole mitmesuguseid erinevaid ühendeid, nagu näiteks alkaloide, polüsahhariide, fenoolühendeid, karotinoide, rasvhappeid jt [51].

2.6. Peitsid

Peitse kasutatakse tekstiilide värvimisel, et parandada looduslike värvainete kinnitumist kiududele [52]. Tekstiilide värvimisel kasutatavad peitsid on enamasti mitmelaenguliste

metalliioonide (näiteks Al^{3+} , Fe^{3+}) soolad (näiteks maarjajää, ehk alumiiniumkaaliummaarjas, $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), mis võivad teatud värvainete ja kiududega moodustada koordinatiivselt seotud komplekse. Metalliooni moodustab värvaines oleva hüdroksüülrühma hapnikuga ühe koordinatiivse sideme ja mõne villakiu koosseisus oleva aatomi vaba elektronpaariga teise koordinatiivse sideme. Tänu nendele kompleksidele seondub värvaine kiu külge tugevalt, mis annab võimaluse säilitada oma värv ja tagada vastupidavus märjale ja mehaanilisele töötlemisele [53].

2.7. Programm R

R on maailmas üks enam levinud statistiline andmetöötluskeskkond, mis kasutab avatud lähtekoodi ja on kõigile tasuta kättesaadav [54]. On olemas ka mitmeid teisi programmeerimiskeeli, millega saab statistilist andmetöötlust teha, kuid sellel programmil on mitu eelist nende ees. Üheks selle kasutamise eeliseks on, et programm R on tasuta ja sinna saab ise internetist tasuta leitavaid lisapakette juurde lisada. Teiseks eeliseks on, et R kasutajate kogukonna liikmed on väga abivalmid, on olemas veebilehekülg, kus kasutajad saavad küsida küsimusi ja aidata vastata teiste küsimustele selle programmi kohta. Kolmandaks eeliseks on, et kõiki analüüse selle programmiga saab uuesti samades tingimustes läbi viia ning koodi saab arhiveerida, et seda hiljem uuesti kasutada. Viimaseks eeliseks on, et R programmi saab kasutada iga arvuti operatsioonisüsteemi peal [55].

3. EKSPERIMENTAALNE OSA

Käesolevas töös analüüsiti, millised pigmendid ja värvained fluorestseerivad ja kas neid saab emissioonispektri põhjal üksteisest eristada.

Esimesena registreeriti emissioonispektrid klaasplaatidele kantud võrdlusproovidest, mis koosnesid sideainest ja pigmentidest. Lisaks uuriti proove, kus oli ainult sideaine, et näha kas ja kui intensiivselt sideaine fluorestseerib. Pigmente uuriti ka pulbri kujul, millele ei olnud sideainet lisatud.

Teiseks analüüsiti erinevate värvainetega värvitud tekstiilikiude.

3.1. Kasutatud aparatuur

Pigmentide ja värvitud villakiudude proove analüüsiti Fluoromax-4 spektrofluoromeetriga. Ergastamiseks on selles instrumendis kasutusel ksenoonlamp, mille abil saab teha analüüse ergastuslainepikkustel 240-850 nm ning emissioonilainepikkustel 290-850 nm. Monokromaatori pilude laiusi sai varieerida vahemikus 0,1 nm kuni 30 nm, siin töös kasutati 2 ja 5 nm. Optilised fiibrid olid tehtud kvartsist.

3.2. Pigmentide analüüs fluorestsentspektromeetriaga

Pigmentide spektreid, mis olid koos sideainega registreeriti kokku 47, millest punaseid pigmente oli 7, kollaseid 14, valgeid 7, rohelisi 7 ja siniseid 12. Sideaineta pigmentide spektreid registreeriti kokku 11. Sideainega pigmendid olid kantud ja vanandatud klaasplaadile, sideaineta puhtad pigmendid olid pulbri kujul. Sideainega segatud kollaste pigmentide korral kasutati ergastuslainepikkuste vahemikku 300-550 nm ja emissioonilainepikkuste vahemikku 310-800 nm. Valgete pigmentide korral võeti ergastuslainepikkuse vahemikuks 350-550 nm ja emissioonilainepikkuse vahemikuks 360-700 nm. Punaste pigmentide mõõtmisel oli ergastuslainepikkuse vahemik 300-600 nm ja emissioonilainepikkuste vahemik 310-800 nm. Roheliste pigmentide korral valiti ergastuslainepikkuse vahemikuks 300-600 nm ja emissioonilainepikkuse vahemikuks 310-750 nm. Siniste pigmentide korral oli ergastuslainepikkuse vahemik 300-700 nm ja emissioonilainepikkuse vahemikuks oli 310-750 nm. Ergastuse ja emissiooni monokromaatorite pilude laiused olid enamasti 5 nm, väljaarvatud kollaste pigmentide korral. Spektrite registreerimiseks kollastest pigmentidest valiti pilude laiuseks 3 nm, sest kollaste pigmentide emissiooni intensiivsused olid võrreldes teiste pigmentidega kõrgemad.

Kui mõõdeti puhtal kujul pigmente valiti ergastuslainepikkuse vahemikuks kas 250-650 nm või 260-700 nm ning emissioonilainepikkuse vahemikuks 260-700 nm või 270-750 nm, pilud olid kõikidel juhtudel 5 nm.

3.2.1. Uuritud pigmendid koos sideainega

Kollased:

- 1) Kollane spinell + linaõli
- 2) Kollane ooker + linaõli
- 3) Massikot + linaõli
- 4) Kaadmium kollane + linaõli
- 5) Napoli kollane + linaõli
- 6) Päikesekollane spinell + linaõli
- 7) Merevaigukollane + linaõli
- 8) Kroomkollane + linaõli
- 9) Baariumkollane + linaõli
- 10) Auripigment + linaõli

Punased:

- 1) Kaadmium punane + linaõli
- 2) Sieena + linaõli
- 3) Veneetsia punane + linaõli
- 4) Inglise punane + linaõli
- 5) Oksiidoranž + linaõli
- 6) Kinaver + kriit + linaõli
- 7) Punane plii + linaõli
- 8) Hematiit + kaltsiumkarbonaat + linaõli

Valged:

3.2.2. Uuritud pigmendid pulbri kujul

- 1) India kollane
- 2) Aureoliin
- 3) Tsinkvalge
- 4) Punane järvepigment

- 1) Litopoon + linaõli
- 2) Kips + linaõli
- 3) Pliivalge + linaõli
- 4) Kriit + linaõli
- 5) Titaanvalge + linaõli
- 6) Tsinkoksiid + linaõli

Rohelised:

- 1) Roheline Küprose umbra + linaõli
- 2) Koobaltroheline + linaõli
- 3) Koobaltroheline + munavalge
- 4) Malahhiit + linaõli
- 5) Kroomoksiidroheline + linaõli

Sinised:

- 1) Ultramariinsinine + linaõli
 - 2) Ultramariinsinine + munavalge
 - 3) Preisi sinine + linaõli
 - 4) Smalt + linaõli
 - 5) Asuriit + linaõli
 - 6) Koobaltsinine + linaõli
 - 7) Türkiis spinell + linaõli
 - 8) Egiptuse sinine + linaõli
- Sinine spinell + linaõli

- 5) Kaadmium roheline
- 6) Smaragd roheline
- 7) Tsüaansinine
- 8) Ftaalotsüaniinsinine
- 9) Indigo

3.3. Uuritud sideained

Fluorestsentspektromeetria meetodil registreeriti kolme enamlevinud sideaine spektrid - linaõli, munavalge ja munakollase. Hilisemates analüüsides on kasutatud ainult linaõli ja munavalge andmeid ning spektreid, sest munakollane polnud ühegi analüüsitud värviplaadi sideaineks. Sideainete mõõtmisel oli ergastuslainepikkus 260-650 nm ning emissioonilainepikkus 270-750 nm. Sideainete korral oli ergastuse monokromaatori pilu laius 5 nm ja emissiooni monokromaatori pilu laius 2 nm, et pärssida spektris segavaid hajuskiirguse ja peegeldumise joonte intensiivsusi.

3.4. Villakiududele kantud tekstiilivärvid

Fluorestsentspektromeetria meetodil uuriti värvimata villakiudu ja 19 tekstiilivärviga värvitud villakiu proovi, millest punaseid oli 11, kollaseid 3, siniseid 2, rohelisi 2 ning 1 valge. Kiudude mõõtmisel oli ergastuslainepikkus 250-650 nm ja emissioonilainepikkus 260-750 nm ning ergastus ja emissiooni pilu laiused olid mõlemad 2 nm. Alguses registreeriti musta paberi fluorestsentsi spekter, mida kasutati kiude mõõtmisel taustana ning teiseks registreeriti korduvalt pestud värvimata villakiu fluorestsentsi spekter. Musta paberi mõõtmisel oli ergastuslainepikkus 250-650 nm ja emissioonilainepikkus 260-750 nm ning pilude laiused 5 nm. Värvimata villakiu mõõtmisel olid pilude laiused 2 nm.

3.4.1 Villakiudude värvimiseks kasutatud värvained ja taimed

Kollased:

- 1) Arukask (*Betula pendula*)
- 2) Harilik ungrukold (*Huperzia selago*)
- 3) Kanarbik (*Calluna vulgaris*)

Valged:

- 1) Hariliku sinerõika lehed (*Isatis tinctoria*)

Punased:

- 1) Kivi-lapiksamblik (*Parmelia saxatilis*)
- 2) Hobumadar (*Galium verum*)
- 3) Arukase koor (*Betula pendula*)
- 4) Värvumadar (*Galium boreale*)
- 5) Metsosi (*Equisetum sylvaticum*)

Sinised:

- 1) Indigo (*Tropical indigo*)
- 2) Harilik sinerõigas (*Woad*)

Rohelised:

- 1) Hulgalehine lupiin (*Lupinus polyphyllus*)
- 2) Kilpjalg (*Pteridium aquilinum*)

3.5. EEM spektrid

EEM spektrid koostati programmiga R, mis võimaldas spektriandmeid töödelda ja graafiliselt esitada. Ergastuslainepikkuseks valiti 300-600 nm ja emissioonilainepikkuseks 310-700 nm, kuid vahel tuli mõnede ühendite puhul seda muuta, sest algselt ei mõõdetud kõiki spektreid samade lainepikkustega. Emissiooni intensiivsust väljendatakse kasutatud spektromeetri tarkvaras määratlemata ühikutes. Käesolevas töös kasutatakse terminit „emissiooniühik“.

Programmi R abil eemaldati Rayleigh esimest ja teist järku hajumispiigid [56], kus ergastuslainepikkused olid võrdsed emissioonilainepikkustega (esimest järku hajumine) ning ka kohad, kus emissioonilainepikkus võrdus kahekordse ergastuslainepikkusega (teist järku hajumine). Rayleigh hajumispiikide eemaldamine on oluline, et EEM spektris tuleksid esile uuritava proovi emissioonimaksimumid. Rayleigh hajumispiigid on väga intensiivsed just tahkete proovide mõõtmisel optilise fiibriga [56] ning kui need jätta eemaldamata, domineeriksid need spektris täielikult.

4. TULEMUSED JA ARUTELU

4.1. Ülevaade tulemustest

Joonisel 10 on toodud näited uuritud pigmentidest nii puhtal kujul kui ka sideainega segatult ning värvitud villakiududest. Tabel 1 esitab ülevaate saadud tulemustest.



Joonis 10. Fotod uuritud pigmentidest ja värvitud villakiududest

Tabel 1. Ülevaade saadud tulemustest

Materjal	Ergastus- ja emissiooni-maksimumid (nm)	Kommentaariid
Sideained ja lakid		
Linaõli (kuivanud)	450/530	Fluorestsents on madala intensiivsusega, vähe karakteristlik (Joonis 11)
Munavalge (kuivanud)	435/525	Fluorestsents on intensiivne, EEM spekter munakollase sarnane (Joonis 12)
Munakollane (kuivanud)	450/545	Fluorestsents on intensiivne, EEM spekter vähe karakteristlik (Joonis 12)
Dammaralak (vanandatud)	-	Ei fluorestseeri (Joonis 13)
Pigmendid		
India kollane	-	Ei fluorestseeri
Aureoliin	-	Ei fluorestseeri
Tsinkvalge	365/505	Fluorestsents on intensiivne ja karakteristlik (Joonis 14)
Punane järvepigment	-	Ei fluorestseeri
Kaadmium roheline	-	Ei fluorestseeri
Smaragd roheline	-	Ei fluorestseeri
Tsüaansinine	-	Ei fluorestseeri
Ftalotsüaniinsinine	-	Ei fluorestseeri

Indigo (pulber)	-	Ei fluorestseeri (Joonis 14)
Pigmendid koos sideainega		
Kollane spinell + linaõli	485/535	Fluorestsents on intensiivne, kuid vähe karakteristlik.
Kollane ooker + linaõli	370/530	Vähe fluorestseeriv, spekter on vähe karakteristlik
Massikot + linaõli	395/480	Fluorestsents on intensiivne, spekter on vähe karakteristlik
Kaadmiumkollane + linaõli	370/530, 540/545	Fluorestsents on intensiivne, spekter karakteristlik ja erineb teistest kollastest
Päikesekollane spinell + linaõli	490/535	Fluorestsents on intensiivne, spekter on vähe karakteristlik ja eristamatu kollase spinelli spektrist
Merevaigukollane + linaõli	370/460	EEM spekter on karakteristlikum kui teiste kollaste omad
Kroomkollane + linaõli	370/530	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Baariumkollane + linaõli	370/520	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Auripigment + linaõli	500/550	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Kaadmiumpunane + linaõli	-	Ei fluorestseeri
Sieena + linaõli	365/450	Fluorestsents on intensiivne, spekter on teistest punastest eristamatu
Veneetsia punane + linaõli	370/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Inglise punane + linaõli	370/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Oksiidoranž + linaõli	-	Ei fluorestseeri
Kinaver + linaõli	365/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Pliipunane + linaõli	370/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Hematiit + linaõli	365/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Litopoon + linaõli	365/510	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Kips + linaõli	435/510	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik

Pliivalge + linaõli	370/515	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik, eristamatu litopoonist
Kriit + linaõli	370/505	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Titaanvalge + linaõli	400/495	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Tsinkoksiid + linaõli	380/440	Fluorestsents on intensiivne, spekter karakteristlik
Roheline Küprose umbra + linaõli	-	Ei fluorestseeri
Koobaltroheline + linaõli	370/515	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik (Joonis 15)
Koobaltroheline + munavalge	-	Ei ole selgelt väljendunud emissioonimaksimumi (Joonis 15)
Malahhiit + linaõli	425/505	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Kroomoksiidroheline + linaõli	370/525	Fluorestsents on intensiivne, spekter vähe karakteristlik
Ultramariinsinine + linaõli	375/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter on vähe karakteristlik ja eristamatu teistest sinistest
Ultramariinsinine + munavalge	365/440	Fluorestsents on intensiivne, spekter on vähe karakteristlik
Preisi sinine + linaõli	375/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter eristamatu teistest sinistest
Smalt + linaõli	375/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter eristamatu teistest sinistest
Asuriit + linaõli	380/465	Fluorestsents on intensiivne, spekter eristamatu teistest sinistest
Koobaltsinine + linaõli	370/490	Fluorestsents on intensiivne, spekter eristamatu teistest sinistest
Türkiis spinell + linaõli	395/430	Fluorestsents on intensiivne, spekter eristamatu teistest sinistest
Egiptuse sinine + linaõli	415/490	Fluorestsents on intensiivne, aga vähe karakteristlik, maksimum asub linaõli emissiooniga samas piirkonnas
Sinine spinell + linaõli	370/455	Fluorestsents on intensiivne, vähe karakteristlik
Värvitud villakiud		
Värvimata vill	375/435	Fluorestsents on intensiivne
Arukask (peitsiga)	470/550	EEM spekter vähe karakteristlik, sarnane kanarbiku omale (Joonis 16)

Harilik ungrukold	360/445	EEM spekter pigem karakteristlik, aga maksimum asub pestud villa emissioonimaksimumiga samas piirkonnas
Kanarbik (peitsiga)	440/530	Fluorestsents on intensiivne, EEM spekter vähe karakteristlik (Joonis 16)
Kivi-lapiksamblik	530/605	Fluorestsents on madala intensiivsusega, EEM spekter on karakteristlik (Joonis 17)
Hobumadar (peitsiga)	545/605	Fluorestsents on intensiivne, spekter värvmadara sarnane (Joonis 17)
Värvmadar (peitsiga)	515/610 (I); 510/600 (II)	Fluorestsents on intensiivne, spekter hobumadara sarnane (Joonis 17)
Metsosi	340/435, 520/545	Fluorestsents on intensiivne, EEM spekter on karakteristlik (Joonis 17)
Indigo	340/405	EEM spekter vähe karakteristlik, sarnaneb värvimata villa omale
Harilik sinerõigas	375/425	EEM spekter pigem vähe karakteristlik, sarnaneb värvimata villa omale
Harilik sinerõigas (lehed)	380/460	Ei fluorestseeri
Hulgalehine lupiin (peitsiga)	375/430	EEM spekter pigem karakteristlik, aga maksimum asub pestud villa emissioonimaksimumiga samas piirkonnas (Joonis 16)
Kilpjalg	355/465, 430/655, 515/540	Fluorestsents on intensiivne, EEM spekter on väga karakteristlik (Joonis 16, 18)

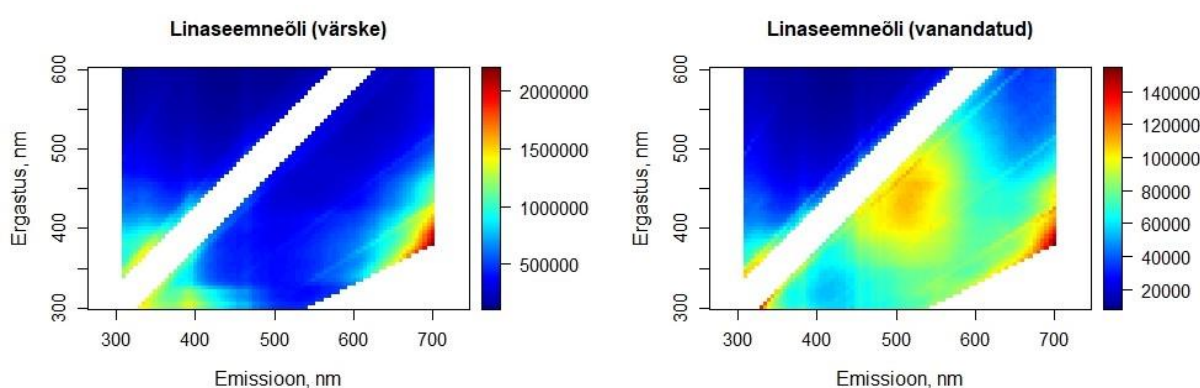
4.2. Sideainete ja lakkide analüüs

Maalides kasutatavad sideained on nähtava valguse jaoks läbipaistvad, kuid sideained võivad sisaldada ühendeid, mis fluorestseerivad. Sideaine fluorestsents võib kattuda pigmentide fluorestsentsiga. Seega on oluline uurida, kuidas ilma pigmendita sideained fluorestseerivad ja kui intensiivselt. See teadmine võimaldab hinnata meetodi sobivust reaalsete proovide uurimiseks, sest reaalses proovides esineb pigment enamasti sideainega koos.

Käesolevas töös uuriti kolme erinevat traditsioonilist maalides kasutatavat sideainet: linaseemneõli, munavalget ja munakollast ning ühte lakina kasutatavat ainet, dammaravaiku. Uuritud värviplaatidel kasutati sideainena peamiselt linaseemneõli, mõned värviplaadid olid valmistatud ka munavalgega. Munakollast ei kasutatud üheski uuritud värviplaadis sideainena.

Munakollast siiski analüüsiti, kuna see on samuti üsna levinud sideaine ning selle omadusi sooviti võrrelda linaseemneõli ja munavalge omadustega.

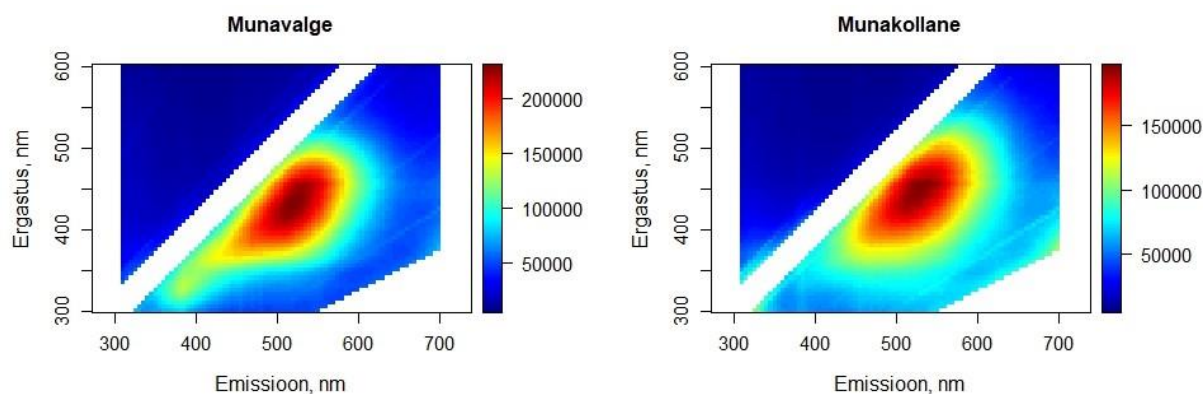
Linaseemneõli analüüsiti nii vedelal (värskel) kui ka vanandatud kujul. Vanandatud linaseemneõli oli valmistatud 16.01.2016. Värske linaseemneõli pärines aastast 2020. Linaseemneõli kuivamisel muutub selle koostis. Selle tõttu võib ka EEM spektrites esineda erinevusi. Kui vaadata Joonist 11 on näha, et värske linaseemneõli EEM spektril ei ole 500 nm emissioonilainepikkuse juures emissioonimaksimumi, kuid vanandatud linaseemneõli EEM spektris on. Nagu varem mainitud, aja möödudes linaseemneõli koostis muutub, õli muutub kollakamaks ja jäigemaks ning see omakorda suurendab emissiooni tekkimise tõenäosust.



Joonis 11. Linaseemneõli (värskel) ja linaseemneõli (vanandatud) EEM spektrid. Sellel ja edaspidistel joonistel on emissiooniintensiivsuste värvikoodid emissiooniühikutes defineeritud spektrite paremas ääres.

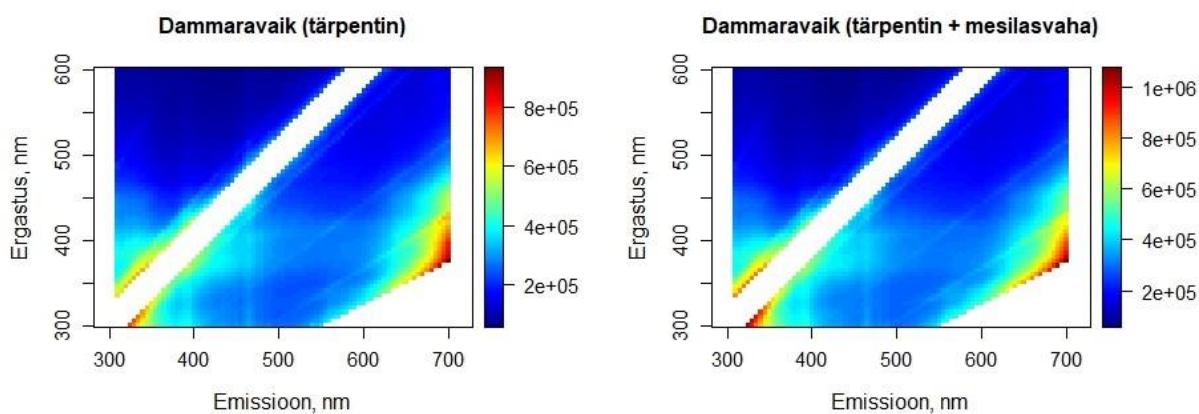
Kahe pigmendi korral oli sideainena peale linaseemneõli kasutuses ka munavalge, nendeks olid koobaltroheline ja ultramariinsinine. Joonisel 12 on toodud munavalge EEM spekter, millelt on näha, et umbes 550 nm emissioonilainepikkuse juures on munavalgel intensiivne emissioonimaksimum. Kui võrrelda munavalge spektrit munakollase EEM spektriga (Joonis 12) on mõlema puhul näha 550 nm juures intensiivset emissioonimaksimumi. Kui vaadata kõigi kolme sideaine EEM spektreid koos, saab eristada kõige paremini linaseemneõli, sest võrreldes teistega ei ole linaseemneõlil intensiivset emissioonimaksimumi 550 nm juures. Munavalge ja munakollase EEM spektreid on pea võimatu üksteisest eristada, kuid mõnevõrra aitab eristada see, et munavalgel algab nähtav emissioon juba 400 nm juures. Munakollase korral põhjustavad emissiooni luteiini ja zeaksantiini olemasolu. Munavalge kohta ei ole vahetult emissiooni põhjustavad ained nii hästi teada, aga arvestades, kui sarnased on

munavalge ja munakollase emissioonispektrid, võib oletada, et need samad ained, kuigi madalamas kontsentratsioonis, põhjustavad ka munavalge fluorestsentsi.



Joonis 12. Munavalge ja munakollase EEM spekter

Dammaralakist registreeriti kaks spektrit, üks kus dammaravaik oli lahustatud tärpentinis ning teine, mis on kommertsiaalselt saadaval (Kremer, *Old Holland*) ja sisaldab lisandina mesilasvaha. Mõlemad dammaralakid olid valmistatud 2014. aastal ja ahjus vanandatud. Mõlema EEM spektrid on toodud Joonisel 13. Jooniselt on näha, et need kaks spektrit on täpselt samasugused, mitte kumbki neist ei oma erilist emissiooni.



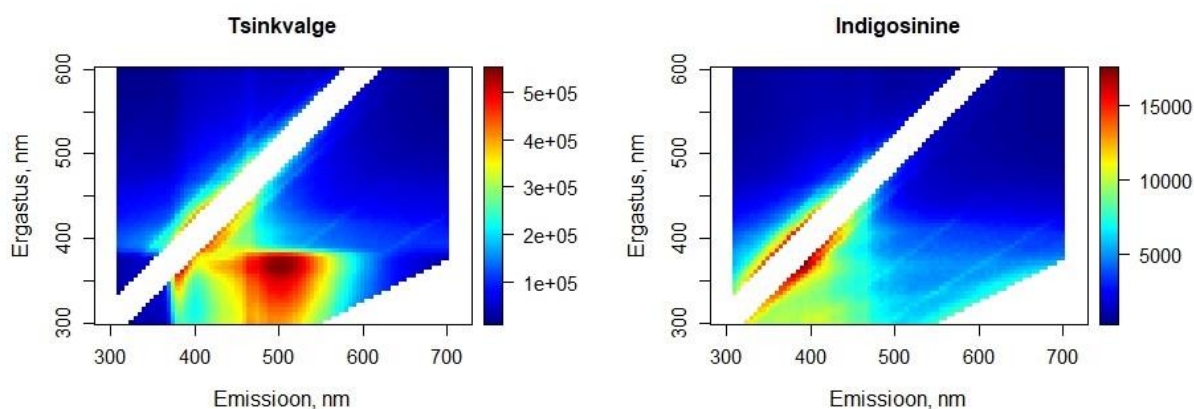
Joonis 13. Dammaralaki EEM spektrid. Vasakpoolne EEM on lakist, mis valmistati tärpentinis lahustatud dammaravaigust. Parempoolne EEM on registreeritud dammaralakist, mis sisaldas lisandina veel mesilasvaha.

4.3. Puhaste pigmentide analüüs

Antud töös uuriti fluorestsentspektromeetria meetodiga 11 erinevat puhast pigmenti, mis ei olnud segatud sideainega. Uuritud pigmendid olid pulbri kujul. Uuritud puhtad pigmendid ei anna intensiivset ja piisavalt karakteristlikku emissiooni, mille tõttu ei ole

fluorestsentspektromeetriline meetod nende ainete identifitseerimiseks sobiv. Kõige iseloomulikuma EEM spektri andis tsinkoksiid, mis on toodud Joonisel 14.

Tsinkoksiidi puhul on märgata EEM spektril emissioonilainepikkusel 500 nm juures intensiivset ja terava servaga emissioonimaksimumi. Tsinkoksiidi EEM spektri profiil on selgelt eristatav teistest sideaineta pigmentide spektritest. Kui võrrelda tsinkoksiidi spektrit näiteks indigosinise (Joonis 14) spektriga on näha, et indigosinine ei fluorestseeri praktiliselt üldse. Tsinkoksiid on ainus uuritud puhastest pigmentidest, mis fluorestseerib.

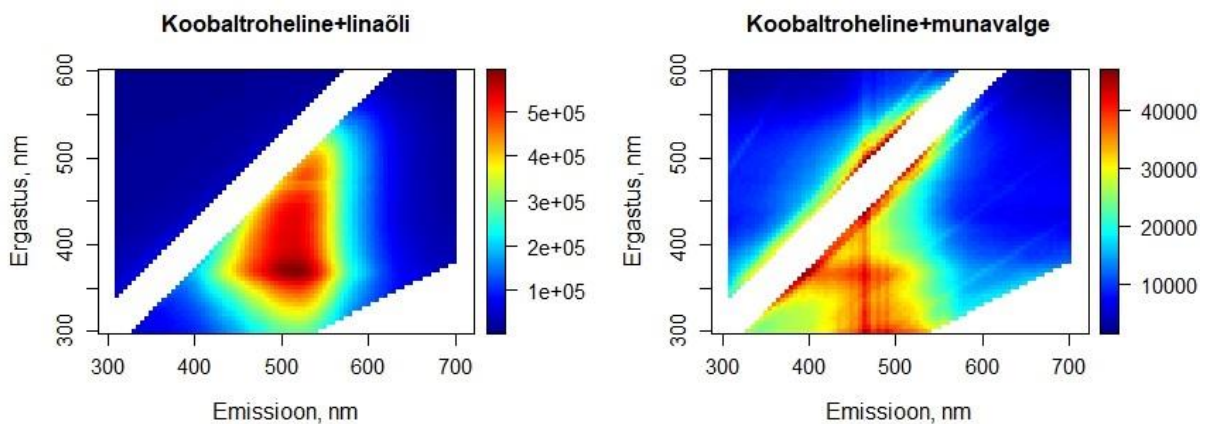


Joonis 14. Tsinkvalge (ZnO) ja indigosinise (C₁₆H₁₀N₂O₂) EEM spekter

4.4. Pigmendid koos sideainega

Analüüsiti 47 sideainega segatud pigmenti, sideaineteks kasutati linaseemneõli ja munavalget. Kahe pigmendi korral analüüsiti mõlema sideainega, nii linaseemneõli kui ka munavalgega, segatud proovi. Üheks selliseks pigmendiks oli koobaltroheline, mis on esitatud Joonisel 15, teiseks pigmendiks oli ultramariinsinine, mis on esitatud Lisa 2 all.

Võrreldes eelmainitud EEM spektreid on näha, et linaseemneõliga segatud koobaltrohelise EEM spekter erineb märkimisväärselt munavalgega segatud koobaltrohelise spektrist. Linaseemneõliga segatud proovi korral on näha emissioonilainepikkuse vahemikus 450-550 nm intensiivset emissioonimaksimumi, mille intensiivsus on suurusjärgus 10⁵ emissiooniühikut. Munavalgega koobaltrohelise proovi korral spektris intensiivset emissioonimaksimumi ei esine. Eelduse järgi oleks pidanud munavalgega segatud proovi korral emissioon intensiivsem olema, sest eraldi sideaineid mõõtes oli munavalge emissioonimaksimum intensiivsem ja koobaltroheline ise fluorestseerib. Kuid siin võib olla põhjus selles, et proovi ei ole korralikult läbi segatud ja munavalge on pigmendi all või siis üks aine neelab või kustutab teise emissiooni.



Joonis 15. Koobaltroheline linaõliga ja koobaltroheline munavalgega EEM spektrid

Võrreldes kõiki rohelisi pigmente kuhu oli lisatud sideainet on näha, et suuremal osal on emissioonilainepikkuse vahemikus 450-550 nm intensiivne emissioonimaksimum, intensiivsusega suurusjärgus 10^5 emissiooniühikut, välja arvatud juhul kui sideaineks oli munavalge, siis on intensiivsus kahe suurusjärgu võrra madalam. Kasutades ainult fluorestsentspektromeetria meetodit on väga keeruline eristada erinevaid rohelisi pigmente. Lisaks asub linaseemneõli enda emissioonimaksimum roheliste pigmentide analüüsiks huvipakkuvast spektrialas.

Siniste pigmentide EEM spektreid vaadates on näha, et emissioonimaksimumid asuvad emissioonilainepikkuse vahemikus 400-500 nm, kus intensiivsused on suurusjärgus 10^6 emissiooniühikut. Kui roheliste pigmentide korral oli linaseemneõliga ja munavalgega segatud proovide emissioonimaksimumide intensiivsused väga erinevad, siis siniste pigmentide puhul on kõigi proovide emissiooni intensiivsused samas suurusjärgus. Peale selle on kõikide siniste pigmentide EEM spektrid väga sarnased, ehk neid pole spektri visuaalsel uurimisel võimalik üksteisest eristada.

Kollaste ja valgete pigmentide puhul on samuti näha, et EEM spektrid on väga sarnased ja paljusid neist on väga keeruline eristada, eriti valgete pigmentide puhul. Võrreldes roheliste ja siniste pigmentide EEM spektritega on emissioonimaksimumid oluliselt laiemad. Maksimumid on ergastuslainepikkuse vahemikus 300-550 nm ja emissioonilainepikkuse vahemikus 450-550 nm kõige intensiivsemad.

Punaste pigmentide puhul on näha, et EEM spektritel on emissioonilainepikkuse vahemik neil kõigil 400-550 nm, ning ergastuslainepikkuse vahemik on 310-450 nm. Punaste pigmentide

spektrid on täiesti eristamatud. Peale selle on kolme punase pigmendi (hematiidi, Inglise ja Veneetsia punase) keemiline koostis samasugune, kõik kolm sisaldavad peamiselt Fe_2O_3 .

Kui värviklasse vaadata oli näha, et neid on üksteisest raske eristada, kuid kui tegu oli koostiselt sarnaste ühenditega, oli see mõnel juhul võimalik. Kaadmiumkollane ja kaadmiumpunane mõlemad koosnevad kaadmiumsulfiidist, kaadmiumpunane sisaldab lisaks ka kaadmiumseleniidi. Kui niimoodi võrrelda erinevaid pigmente, on võimalus natukenegi neid eristada. Kaadmiumkollase ja kaadmiumpunase EEM spektrid (Lisa 4) olid täiesti erinevad. Kaadmiumpunane ei fluorestseeri üldse, kuid kaadmiumkollasel oli spektril mitu emissioonimaksimumi asukohta. Emissioonilainepikkuste vahemik oli mõlema maksimumi korral 520-550 nm, kuid ühe ergastuslainepikkuseks oli 370 nm ja teisel 540 nm.

4.5. Värvitud villakiudude analüüs

Kõik villakiud mõõdeti musta paberi peal, et kõigil oleks taust samasugune. Esmalt registreeriti musta paberi ja värvimata pestud villa spektrid, vastavad EEM spektrid on toodud Joonisel 16. Registreeritud kiudude spektrid sõltuvad kõik mõnevõrra nii musta paberi kui ka pestud villa fluorestsentsi omadustest, musta paberi fluorestsentsist võivad rohkem sõltuda värvaine spektrid, kus värvitud villakiud oli hästi peenikene või seda oli vähe, sest sellisel juhul oli kiu asetamine optilise fiibri alla keeruline ja suur osa ergastavat kiirgust võib tabada kiu asemel paberit.

Mõnede värvitud villakiudude EEM spektrid olid sarnased (24 % värvainetest, mida kiudude värvimiseks kasutati, olid eristamatud), kus emissioonimaksimum oli umbes 400-500 nm emissioonilainepikkuse vahemiku juures, kuid enamikel värvainetel, mida villakiudude värvimiseks kasutati, olid iseloomulikud EEM spektrid ja neid värvaineid, saab üksteisest eristada (Tabel 1). Paari värvaine puhul oli ka huvitav võimalus jälgida, kuidas mõjutab kiu mitmekordne värvimine emissioonimaksimumi intensiivsust, näiteks värvmadaraga ning hobumadaraga värvitud kiud, mille spektreid kujutab Joonis 17.

Värvmadaraga oli värvitud kokku kolm proovi, kaks proovi olid värvitud ühe korra (üks värvitud aprillis, teine juulis) ning üks proov oli kaks korda värvitud. Kui võrrelda kahte värvmadaraga värvitud villakiu proovi, mille puhul mõlemat värviti ainult ühe korra, on EEM spektril märgata mõningat erinevust emissioonimaksimumi asukohas ja intensiivsuses. Esiteks on juulis värvitud villakiu emissioonimaksimum intensiivsem, aprillis värvitud villakiu korral oli see $4 \cdot 10^5$ aga juulis värvitud kiu korral oli see $7 \cdot 10^5$ emissiooniühikut. Samas fluorestsentsi intensiivsust võib mõjutada ka fiibri otsa kaugus villakiu proovist või natukene erinev

värvimistehnika. Lisaks nendele sõltub emissiooni intensiivsus ka kiu asendist fiibri all, sest värvainete paiknemine villakiul ei ole homogeenne. Seega, seda erinevust ei saa sisuliselt lugeda. Teiseks on erinev spektrite karakteristikud. Peale vaadates on näha, et spektrid on kuju poolest on veidi erinevad. Aprillis värvitud villakiu emissioonimaksimum asub emissioonilainepikkuse vahemikus 550-650 nm ning ergastuslainepikkuse vahemikus 350-550 nm. Juulis värvitud kiu korral puudub intensiivne emissioon, kui ergastuslainepikkus on vahemikus 350-450 nm. Kuid mõlema EEM spektri puhul on näha nõrka emissiooni 400-450 nm emissioonilainepikkuse vahemiku juures, selles piirkonnas asub värvimata pestud villa emissioonimaksimum, seega suure tõenäosusega kuulub see maksimum värvimata villale ja mitte värvainele. EEM spekter registreeriti ka kahekordse värvimisega villakiu proovist. Teistkordse värvamadaraga värvimise EEM spekter on karakteristikult samasugune nagu juulis värvitud villakiu EEM spekter. Ainuke asi, mis neid kahte spektrit eristab on emissioonimaksimumi intensiivsus, teistkordse värvimise korral oli see $1,5 \cdot 10^6$ emissiooniühikut, mis on suurusjärgu võrra intensiivsem. Värvmadarate korral fluorestseerivad eeskätt alisariin, rubiadiin ja purpuriin ning nende ühendite emissioonimaksimumid peaks asuma emissioonilainepikkusel umbes 600 nm.

Lisaks värvmadarale uuriti ka hobumadara (Joonis 17) esmakordse ja teistkordse värvimise erinevust, kuid hobumadara korral ei olnud need kaks EEM spektrit teineteisest eristatavad, mõlema puhul olid emissioonimaksimumid täpselt samadel lainepikkustel ja ka nende intensiivsused ei muutunud märgatavalt, seega mitmekordne värvimine ei avalda erilist mõju fluorestsentspektreile. Hobumadara korral fluorestseerivad samad ühendid, mis värvmadara korral. Seetõttu on nendega värvitud villakiu EEM spektrid ka väga sarnased.

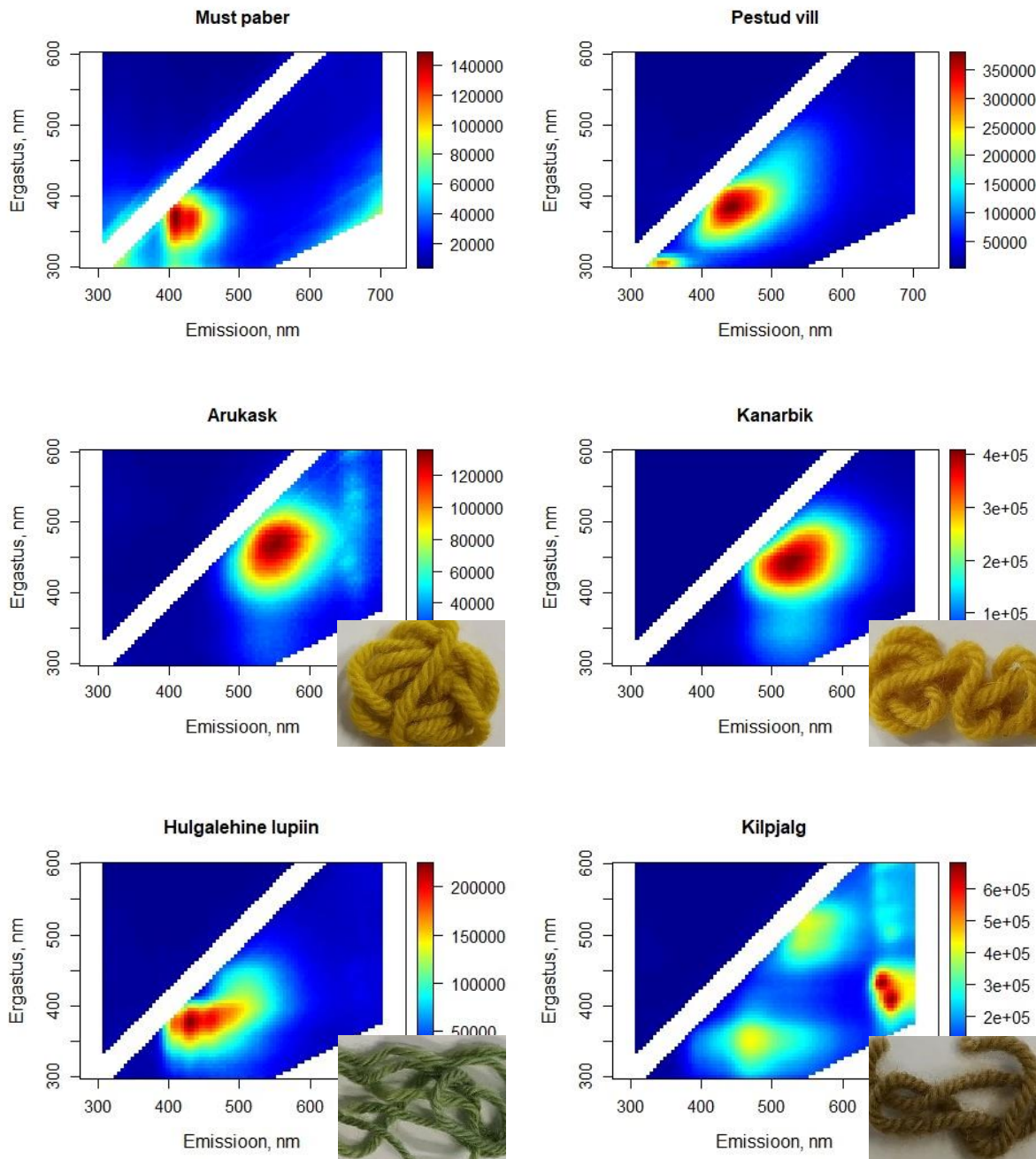
Värvmadarat ja hobumadarat saab eristada kõigist teistest värvitud villakiu EEM spektritest, kuid mitte teineteisest. Madarate spektritel on iseloomulikud EEM spektrid, mis on kahe lähestikku asuva emissioonimaksimumiga, teistel spektritel sellist asja ei ole.

Punaste villakiudude EEM spektreid vaadates oli näha, et nende korral on emissioonilainepikkuse vahemikus 550-650 nm ja ergastuslainepikkuse vahemikus 500-570 nm märgata intensiivset emissiooni. Teist värvi villakiu proovide korral mainitud lainepikkuste vahemikus emissiooni ei esinenud. Värvmadar ja hobumadar, mis punastest värvainetest sisaldasid purpuriini, alisariini ja rubiadiini. Teised punased sisaldasid kas väikses koguses kvartsetiini või muid tundmatuid ühendeid.

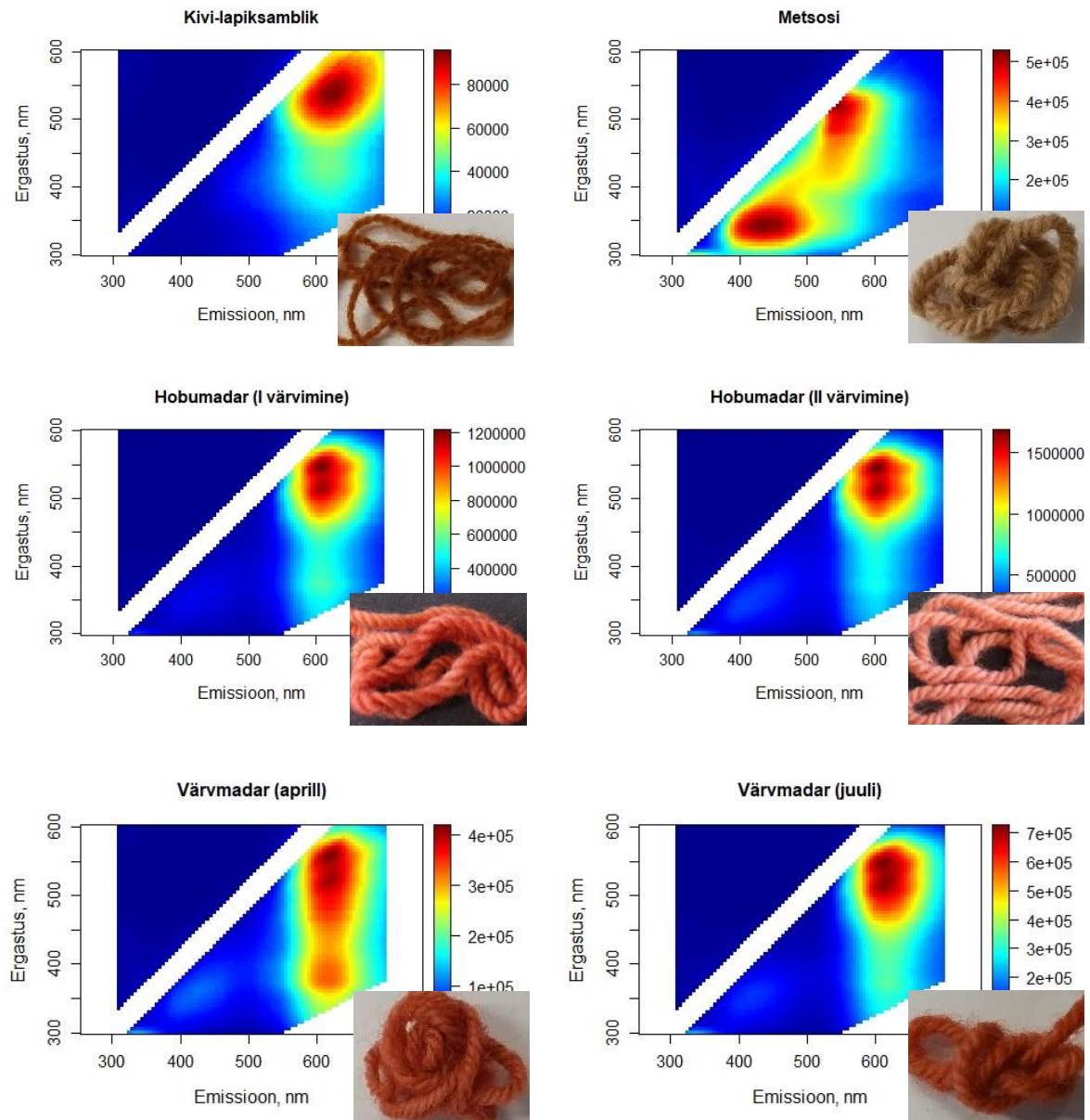
Metsosja saab punastest värvitud villakiududest kõige paremini eristada, sest metsosjal on erinevalt teistest kaks emissioonimaksimumi ja mõlemad asuvad teiste punaste villakiudude emissioonimaksimumidest erinevatel lainepikkustel. Üks neist asub emissioonilainepikkuse vahemikus 475-500 nm ja teine asub vahemikus 510-600 nm.

Arukasega ja kanarbikuga värvitud kollaste kiudude EEM spektritel on emissioonimaksimumid täpselt samades lainepikkuste vahemikes. Hariliku ungukoldiga (Lisa 3) värvitud kollase villakiu EEM spekter on teistsugune, erineb arukase ja kanarbiku EEM spektritest, emissioonimaksimum asub madalamatel emissioonilainepikkusel. Nii arukase kui kanarbiku korral on neis fluorestseerivaks ühendiks kvartsetiin, kanarbikus on lisaks veel ka kaempferool. Kaempferool ja kvartsetiin fluorestseerivad emissioonilainepikkusel umbes 520 nm, ergastatamiseks sobib lainepikkus 470 nm. Harilikus ungrukoldis on põhiliseks ühendiks makluriin.

Rohelist värvi kiudusid oli ainult kaks, värvitud hulgalehise lupiini ja kilpjalaga. Hulgalehise lupiini ja kilpjalaga värvitud kiudude EEM spektrid erinevad teineteisest intensiivsuste kui ka emissioonimaksimumide asukohtade poolest, vastavad EEM spektrid on Joonisel 16. Esimese puhul on emissioonimaksimum 400-500 nm juures ja maksimaalne intensiivsus on $2 \cdot 10^5$ emissiooniühikut. Hulgalehise lupiini fluorestseerivaks ühendiks on apigeniin. Kilpjalaga värvitud kiu EEM spekter on karakteristlik ja sellel on näha mitut emissioonimaksimumi. Üks neist on samas emissioonilainepikkuse vahemikus, kus asub ka hulgalehise lupiini emissioonimaksimum, see emissioonimaksimum võib kuuluda villakiu emissioonile. Teised emissioonimaksimumid paiknevad pikematel emissioonilainepikkustel. Kilpjalaga värvitud kiu emissioonimaksimumi intensiivsus on $6 \cdot 10^5$. Kilpjalal sisaldab mitmeid erinevaid fluorestseerivaid ühendeid, näiteks kvartsetiini ja makluriini.



Joonis 16. EEM spektrid: must paber, pestud vill, arukask (*betula pendula*), kanarbik (*calluna vulgaris*), hulgalehine lupiin (*lupinus polyphyllus*) ja kilpjalg (*pterdium aquilinum*).



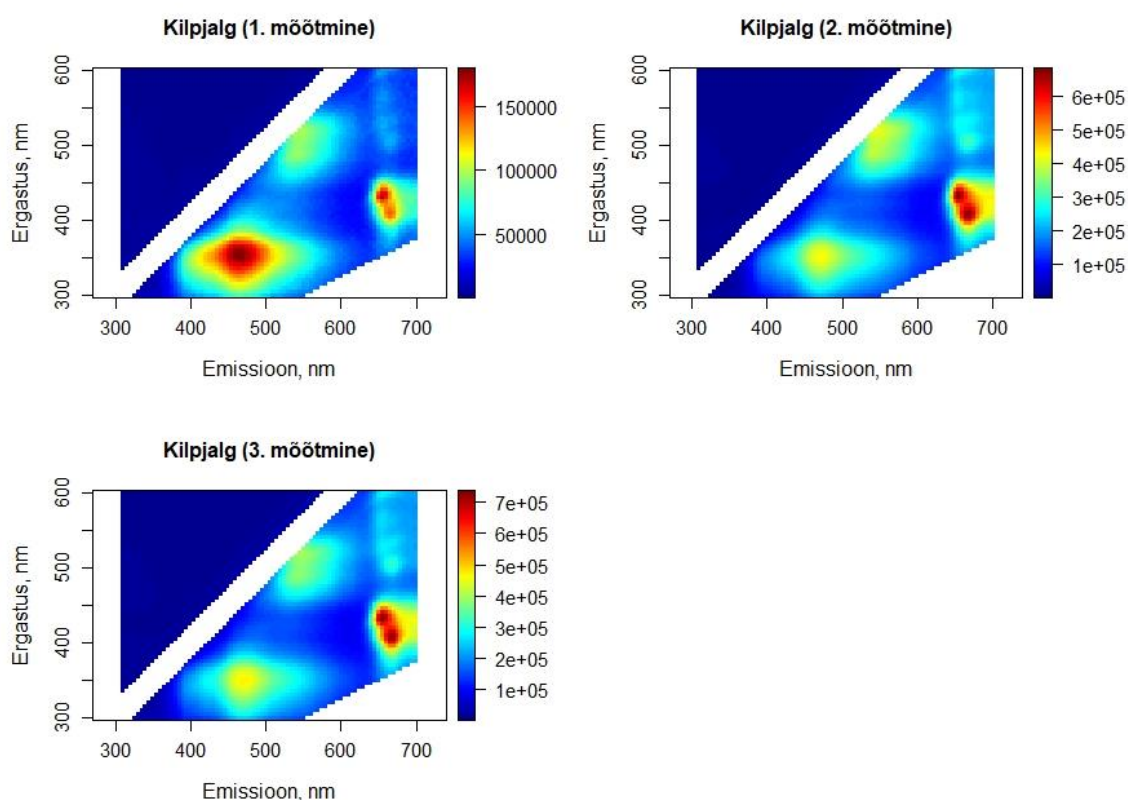
Joonis 17. EEM spektrid (punased): kivi-lapiksamblik (*parmelia saxatis*), metsosi (*equisetum sylvaticum*), hobumadar (*galium verum*, I värvimine), hobumadar (*galium verum*, II värvimine), värvmadar (*galium boreale*, I värvimine, aprill) ja värvmadar (*galium boreale*, I värvimine, juuli)

4.5.1. Kordusmõõtmised

Mitmetest proovidest tehti erinevatel päevadel kordusmõõtmisi, et selgitada välja, kas spektrid on piisavalt reprodutseeritavad.

Villakiudude korral võib EEM spektri intensiivsus ja ka kuju sõltuda fiibri kaugusest villakiust või fiibri alla pandud villakiu täpsest asukohast. Kaks kordusmõõtmist tehti kivi-lapiksamblikust ja metsosjast (Lisa 5). Kilpjalast, värvmadarast ja hobumadarast tehti kokku

kolm kordusmõõtmist. Kilpjalast tehti rohkem mõõtmisi, sest selle EEM spekter on teistest väga erinev ja kilpjala spektrite põhjal saab hästi hinnata spektrite reprodutseeritavust. Joonisel 18 on toodud kilpjala kolmel kordusmõõtmisel saadud spektrid. Nagu neilt spektritelt on näha, siis kõigi korral on emissioonimaksimumide asukohad täpselt samades kohtades. Mõningane erinevus on fluorestsentsi intensiivsus, kuid see võib olla seotud fiibri kaugusest ja mis koht täpselt fiibri alla sai. Suurima emissioonimaksimumi asukohas, umbes 460 nm, oleva maksimumi intensiivsus muutub palju, kuid see on ilmselt eeskätt villast tingitud maksimum.



Joonis 18. EEM spektrid: kilpjalg (1. mõõtmine, 04.12.2020), kilpjalg (2. mõõtmine, 01.04.2021) ja kilpjalg (3. mõõtmine, 13.05.2021)

Lisaks värvitud villakiududele, tehti kordusmõõtmisi ka pigmentidest ja sideainega segatud pigmentidest. Kordusmõõtmisi tehti näiteks kollastest pigmentidest, nagu massikot, spinellkollane, kollane ooker ja päikesekollane spinell. Massikoti ja kollase ookriga tehtud kordusmõõtmiste EEM spektrid on toodud Lisas 5.

Kordusmõõtmiste tulemustest saab järeldada, et kõigi proovitüüpide korral on mõõtmised hästi reprodutseeritavad.

4.6. Fluorestsentspektroskoopia ja teised meetodid pigmentide ja tekstiilivärvide identifitseerimisel

Käesoleva tööga sai kinnitust, et enamikku sama värvi pigmente on ainult fluorestsentspektromeetriaga väga raske või võimatu eristada, sest sama värvi pigmentide spektrid on väga sarnased ja lisaks mõjutavad kasutatud sideained spektrite karakteristikust ning intensiivsust. Reaalsete proovide, maalide, korral on pigmentide analüüs veelgi keerulisem, sest maalidel kasutatakse tihtipeale ka lakki. Seega, maalipigmentide määramisel on fluorestsentspektroskoopia rakendus piiratud.

Seevastu erinevad looduslikud tekstiilivärvained on fluorestsentspektromeetriaga paremini eristatavad. Üldiselt on sellised proovid koostiselt mõnevõrra lihtsamad. Värvained on vahetult materjali pinnal, mitte dispergeeritud sideainesse, mis mõõtmisi segaks. Tänu sellele, et värvaine on kinnitunud villakiu pinnale, ei sega villakiu enda emissioon oluliselt värvaine analüüsimist. Sellegipoolest, ka tekstiilivärvide korral jääb kindlaks identifitseerimiseks fluorestsentspektrosmeetriast enamasti väheks.

Seega, kõige paremini võimaldab ühendeid eristada mitme sõltumatu meetodi koos kasutamine. Kõige kasutatavamad meetodid määramaks pigmente, mis on segatud kokku sideainega, on ATR-FT-IR ja SEM-EDS meetodid. ATR-FT-IR eelisteks on meetodi kiirus ja võime analüüsida väga väikseid proove. Kuid selle meetodi eelis, et paljud pigmendid ja kõik sideained neelavad keskinfrapuna alas on ka puudus, sest mitmete pigmentide piigid võivad kattuda ja siis ei saa komponente usaldusväärselt identifitseerida. Peale keskinfrapuna ala on hakatud rohkem mõõtmisi tegema kauginfrapuna alas. Kui pigmendid on segatud linaseemneõliga, saab mitmeid neist kauginfrapuna alas eristada, sest nad omavad selles alas karakteristiklike piike, kus linaseemneõli ei oma karakteristiklike piike [11].

SEM-EDS on elementanalüüsi meetod, mida saab kasutada pigmentide eristamiseks kui pigmentide koostised on natukenegi erinevad. Kui pigmendid koosnevad suuresti samadest elementidest on raske pigmentidel vahet teha [57]. Erinevalt fluorestsentspektromeetriast on SEM-EDS destruktiivne meetod, mille jaoks on vaja võtta proov (kuigi see võib olla väga väike). Peale pigmendi analüüsi saab SEM-EDS meetodit rakendada ka villakkiududel kasutatud peitside määramiseks, sest peitsid sisaldavad sageli metallioone.

Tekstiilikiudude värvimiseks kasutatud värvaineid saab määrata mitmete meetoditega – näiteks vedelikkromatograafia erinevate detektoritega ja MALDI massispektromeetria – kuid need kõik on destruktiivsed – vaja on võtta proov – ja proovi ettevalmistus ning analüüs võivad olla

väga töömahukad [17]. Peale nende probleemide võib ette tulla probleeme ka analüüsi tehes, värvimine ebaühtlane, värv on kulunud või rikutud [21]. Proovi destruktiivsuse ja ettevalmistuse probleemid puuduvad, kui kasutada vahetult pinnalt mõõdetavaid fluorestsentsispektreid. Fluorestsentsispektrid võivad omada erinevaid emissioonimaksimume, mida saab eristada nende asukoha ja kuju kaudu.

5. KOKKUVÕTE

Pigmentide ja värvainete uurimine fluorestsentspektromeetria meetodil

Elsa Vanker

Fluorestsentspektromeetria sobib kultuuriväärtustelt pigmente määrares abi- või kinnitavaks meetodiks. Iseseisvalt see meetod ei võimalda pigmente identifitseerida, sest nende spektrid pole piisavalt karakteristlikud ja lisatud sideaine mõjutab spektrite karakteristlikkust ning intensiivsust. Samas, kinnitava meetodina võib fluorestsentspektromeetria olla kasulik, juhul kui on kaks sarnast pigmenti, näiteks kui on tegemist kaadmiumipõhiste pigmentidega. Kaadmiumkollane ja kaadmiumpunane on fluorestsentspektromeetria abil eristatavad, kuid kui neid analüüsitakse infrapunaspektromeetriaga, siis see meetod ei suutaks neid üksteisest eristada.

Villakiududele kantud looduslikke värvaineid saab fluorestsentspektroskoopia meetodil paremini eristada kui pigmente värvikihtides. Erinevalt värvikihtidest, kus sideaine segas tulemust päris palju, segab villakiu enda fluorestsents pigem vähe. Karakteristlikud EEM spektrid on näiteks kilpjala, metsosja või siis kivi-lapiksamblikuga värvitud villakiududel. Mitmed värvained omavad intensiivseid emissioonimaksimume kõrgematel emissioonilainepikkustel, villakiu enda emissioonimaksimum on üsna madalal emissioonilainepikkusel (435 nm).

Fluorestsentspektromeetria on teiste pigmentide ja värvainete määramise meetoditega võrreldes infovaesem ja piiratud rakendusala, sest määratav ühend peab fluorestseerima. Samas on see meetod kiire ja sellega saab analüüsida mittedestruktiivselt, mis on väga oluline kultuuriväärtusi analüüsides.

6. SUMMARY

Analysing pigments and dyes using fluorescence spectrometry

Elsa Vanker

Fluorescence spectrometry is a suitable assisting or confirmatory method for the determination of pigments acquired from cultural objects. This method alone does not allow to identify the pigments because their spectra are not characteristic enough and the added binder affects the spectral characteristics and intensity. However, fluorescence spectrometry may be useful as confirmatory method, e.g. for differentiating between two bright pigments. Cadmium yellow and cadmium red can be examples – they can be distinguished by fluorescence spectrometry, but if they are analyzed by infrared spectrometry, it will not be possible to distinguish them from one another.

Natural dyes applied to wool fibers can be distinguished by fluorescence spectrometry better than pigments in paint layers. Unlike pigments in paint layers, where binder interferes with results quite a lot, the fluorescence of wool fiber itself does not interfere so much. For example, the dyes from *pterdium aquilinum*, *equisetum sylvaticum* or *parmelia saxatilis* can be well distinguished. Many dyes have intense emission maxima at higher emission wavelengths, while the wool fiber itself has its emission maximum at rather low wavelength (435 nm).

Fluorescence spectrometry is less informative than other methods for determination of pigments and dye compounds and analyzed compound must fluorescence. However, fluorescence spectrometry is fast and can be used to analyze non-destructively, which is important when analyzing cultural objects.

7. KASUTATUD KIRJANDUS

1. Crouch, S.; Skoog, D.; Holler, F. *Principles of Instrumental Analysis*; 2017.
2. Yu, J.; Xiao, K.; Xue, W.; Shen, Y.; Tan, J.; Liang, S.; Wang, Y.; Huang, X. Excitation-Emission Matrix (EEM) Fluorescence Spectroscopy for Characterization of Organic Matter in Membrane Bioreactors: Principles, Methods and Applications. *Front. Environ. Sci. Eng.*, **2020**, *14* (2), 31.
3. Bieroza, M.; Baker, A.; Bridgeman, J. Exploratory Analysis of Excitation–Emission Matrix Fluorescence Spectra with Self-Organizing Maps—A Tutorial. *Educ. Chem. Eng.*, **2012**, *7* (1), e22–e31.
4. Selberg, S.; Pagano, T.; Tshepelevitsh, S.; Haljasorg, T.; Vahur, S.; Luik, J.; Saame, J.; Leito, I. Synthesis and Photophysics of a Series of Lipophilic Phosphazene-Based Fluorescent Indicators. *J. Phys. Org. Chem.*, **2019**, *32* (7), e3950.
5. Tan, J.; Li, R.; Jiang, Z.-T.; Shi, M.; Xiao, Y.-Q.; Jia, B.; Lu, T.-X.; Wang, H. Detection of Extra Virgin Olive Oil Adulteration With Edible Oils Using Front-Face Fluorescence and Visible Spectroscopies. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **2018**, *95* (5), 535–546.
6. Romani, A.; Clementi, C.; Miliani, C.; Favaro, G. Fluorescence Spectroscopy: A Powerful Technique for the Noninvasive Characterization of Artwork. *Acc. Chem. Res.*, **2010**, *43* (6), 837–846.
7. Pronti, L.; Felici, A. C.; Ménager, M.; Vieillescazes, C.; Piacentini, M. Spectral Behavior of White Pigment Mixtures Using Reflectance, Ultraviolet—Fluorescence Spectroscopy, and Multispectral Imaging. *Appl. Spectrosc.*, **2017**, *71* (12), 2616–2625.
8. Clementi, C.; Miliani, C.; Romani, A.; Favaro, G. In Situ Fluorimetry: A Powerful Non-Invasive Diagnostic Technique for Natural Dyes Used in Artefacts. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2006**, *64* (4), 906–912.
9. Clementi, C.; Miliani, C.; Romani, A.; Santamaria, U.; Morresi, F.; Mlynarska, K.; Favaro, G. In-Situ Fluorimetry: A Powerful Non-Invasive Diagnostic Technique for Natural Dyes Used in Artefacts. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2009**, *71* (5), 2057–2062.
10. Rather, L. J.; Shahid-ul-Islam; Mohammad, F. Study on the Application of Acacia Nilotica Natural Dye to Wool Using Fluorescence and FT-IR Spectroscopy. *Fibers Polym.*, **2015**, *16* (7), 1497–1505.
11. Vahur, S.; Teearu, A.; Peets, P.; Joosu, L.; Leito, I. ATR-FT-IR Spectral Collection of Conservation Materials in the Extended Region of 4000–80 cm^{-1} . *Anal. Bioanal. Chem.*, **2016**, *408* (13), 3373–3379.
12. Peets, P.; Kaupmees, K.; Vahur, S.; Leito, I. Reflectance FT-IR Spectroscopy as a Viable Option for Textile Fiber Identification. *Herit. Sci.*, **2019**, *7* (1), 93.
13. 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. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1157* (1), 260–272.
14. Karapanagiotis, I.; Daniilia, I.; Tsakalof, A.; Chrysoulakis, Y. Identification of Red Natural Dyes in Post-Byzantine Icons by HPLC. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **2005**, *28* (5), 739–749.
15. Karapanagiotis, I.; Chrysoulakis, Y. Investigation of Red Natural Dyes Used in Historical Objects by HPLC-DAD-MS. *Ann. Chim.*, **2006**, *96* (1–2), 75–84.
16. Krueve, A.; Rebane, R.; Kipper, K.; Oldekop, M.-L.; Evard, H.; Herodes, K.; Ravio, P.; Leito, I. Tutorial Review on Validation of Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Methods: Part I. *Anal. Chim. Acta*, **2015**, *870*, 29–44.
17. Peets, P.; Vahur, S.; Krueve, A.; Haljasorg, T.; Herodes, K.; Pagano, T.; Leito, I. Instrumental Techniques in the Analysis of Natural Red Textile Dyes. *J. Cult. Herit.*, **2020**, *42*, 19–27.

18. Leona, M.; Stenger, J.; Ferloni, E. Application of Surface-Enhanced Raman Scattering Techniques to the Ultrasensitive Identification of Natural Dyes in Works of Art. *J. Raman Spectrosc.*, **2006**, 37 (10), 981–992.
19. Chen, K.; Leona, M.; Vo-Dinh, K.-C.; Yan, F.; Wabuyele, M. B.; Vo-Dinh, T. Application of Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) for the Identification of Anthraquinone Dyes Used in Works of Art. *J. Raman Spectrosc.*, **2006**, 37 (4), 520–527.
20. Ołowska, O.; Ślebioda, M.; Kot-Wasik, A.; Karczewski, J.; Śliwka-Kaszyńska, M. Chromatographic and Spectroscopic Identification and Recognition of Natural Dyes, Uncommon Dyestuff Components, and Mordants: Case Study of a 16th Century Carpet with Chintamani Motifs. *Molecules*, **2018**, 23 (2), 339.
21. Vajanto, K. Dyes and Dyeing Methods in Late Iron Age Finland. *Värit ja värjäysmenetelmät Suomessa rautakauden lopulla*, **2016**, 192.
22. Gettens, R. J.; Stout, G. L. *Painting Materials: A Short Encyclopedia*; Dover Art Instruction; Dover Publications, 2012.
23. Herbst, W.; Hunger, K. *Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications*; John Wiley & Sons, 2006.
24. Spyros, A.; Anglos, D. Studies of Organic Paint Binders by NMR Spectroscopy. *Appl. Phys. A*, **2006**, 83 (4), 705–708.
25. Nykter, M.; Kymäläinen, H.-R.; Gates, F. Quality Characteristics of Edible Linseed Oil. *Agric. Food Sci.*, **2008**, 15 (4), 402.
26. Juita; Dlugogorski, B. Z.; Kennedy, E. M.; Mackie, J. C. Low Temperature Oxidation of Linseed Oil: A Review. *Fire Sci. Rev.*, **2012**, 1 (1), 3.
27. Venter, J. Egg tempera and binders <http://www.juliet-icons.co.uk/egg-tempera-and-binders.html> (accessed Apr 12, 2021).
28. Gellermann, W.; Ermakov, I. V.; Ermakova, M. R.; McClane, R. W.; Zhao, D.-Y.; Bernstein, P. S. In Vivo Resonant Raman Measurement of Macular Carotenoid Pigments in the Young and the Aging Human Retina. *JOSA A*, **2002**, 19 (6), 1172–1186.
29. Vandenabeele, P.; Wehling, B.; Moens, L.; Edwards, H.; De Reu, M.; Van Hooydonk, G. Analysis with Micro-Raman Spectroscopy of Natural Organic Binding Media and Varnishes Used in Art. *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 407 (1), 261–274.
30. Vahur, S.; Teearu, A.; Haljasorg, T.; Burk, P.; Leito, I.; Kaljurand, I. Analysis of Dammar Resin with MALDI-FT-ICR-MS and APCI-FT-ICR-MS. *J. Mass Spectrom.*, **2012**, 47 (3), 392–409.
31. van Doelen, G. A. Molecular Studies of Fresh and Aged Triterpenoid Varnishes. **1999**.
32. Simpson, W. S.; Crawshaw, G. *Wool: Science and Technology*; Elsevier, 2002.
33. Wang, B.; Yang, W.; McKittrick, J.; Meyers, M. A. Keratin: Structure, Mechanical Properties, Occurrence in Biological Organisms, and Efforts at Bioinspiration. *Prog. Mater. Sci.*, **2016**, 76, 229–318.
34. Millington, K. R. Comparison of the Effects of Gamma and Ultraviolet Radiation on Wool Keratin. *Color. Technol.*, **2000**, 116 (9), 266–272.
35. Beck, P.; Caudullo, G.; de Rigo, D.; Tinner, W. *Betula Pendula and Betula Pubescens*. 4.
36. Lachowicz, H.; Wróblewska, H.; Wojtan, R.; Sajdak, M. The Effect of Tree Age on the Chemical Composition of the Wood of Silver Birch (*Betula Pendula* Roth.) in Poland. *Wood Sci. Technol.*, **2019**, 53 (5), 1135–1155.
37. Germanò, M. P.; Cacciola, F.; Donato, P.; Dugo, P.; Certo, G.; D'Angelo, V.; Mondello, L.; Rapisarda, A. *Betula Pendula* Leaves: Polyphenolic Characterization and Potential Innovative Use in Skin Whitening Products. *Fitoterapia*, **2012**, 83 (5), 877–882.
38. Mandim, F.; Barros, L.; C. Calhelha, R.; V. Abreu, R. M.; Pinela, J.; José Alves, M.; Heleno, S.; F. Santos, P.; R. Ferreira, I. C. F. *Calluna Vulgaris* (L.) Hull: Chemical

- Characterization, Evaluation of Its Bioactive Properties and Effect on the Vaginal Microbiota. *Food Funct.*, **2019**, *10* (1), 78–89.
39. Bradic, J.; Petkovic, A.; Tomovic, M. Phytochemical and Pharmacological Properties of Some Species of the Genus *Galium* L. *Galium Verum* and *Mollugo*. *Serbian J. Exp. Clin. Res.*, **2018**.
 40. SG, Z.; DO, B.; MV, K.; AM, A.; AA, B.; TV, P.; OYu, S.; VI, G. Determination of the Chemical Composition of Lady's Bedstraw (*Galium Verum* L.) Herb Extract by GC-MS. *Pharmacogn. J.*, **2020**, *12* (4), 857–863.
 41. Hill, R.; Richter, D.; Hopkins, F. G. Anthraquinone Pigments in *Galium*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B - Biol. Sci.*, **1937**, *121* (825), 547–560.
 42. Love, A.; Love, D. Cytotaxonomical Studies on the Northern Bedstraw. *Am. Midl. Nat.*, **1954**, *52* (1), 88–105.
 43. Northern bedstraw: description, use in traditional medicine - nature 2021 <https://eng.agromassidayu.com/podmarennik-severnij-opisanie-ispolzovanie-v-narodnoj-medicine-page-605345> (accessed Apr 12, 2021).
 44. Valtonen, A.; Jantunen, J.; Saarinen, K. Flora and Lepidoptera Fauna Adversely Affected by Invasive *Lupinus Polyphyllus* along Road Verges. *Biol. Conserv.*, **2006**, *133* (3), 389–396.
 45. Farag, M. A.; Khattab, A. R.; Maamoun, A. A.; Kropf, M.; Heiss, A. G. UPLC-MS Metabolome Based Classification of *Lupinus* and *Lens* Seeds: A Prospect for Phyto-Equivalency of Its Different Accessions. *Food Res. Int.*, **2019**, *115*, 379–392.
 46. Der, J. P.; Barker, M. S.; Wickett, N. J.; dePamphilis, C. W.; Wolf, P. G. De Novo Characterization of the Gametophyte Transcriptome in Bracken Fern, *Pteridium Aquilinum*. *BMC Genomics*, **2011**, *12* (1), 99.
 47. Koray Gülsoy, S.; Şimşir, Ş. Chemical Composition, Fiber Morphology, and Kraft Pulping of Bracken Stalks (*Pteridium Aquilinum* (L.) Kuhn). *Drv. Ind.*, **2018**, *69* (1), 23–33.
 48. Pathania, S.; Kumar, P.; Singh, S.; Khatoon, S.; Rawat, A. K. S.; Punetha, N.; Jensen, D. J.; Lauren, D. R.; Somvanshi, R. Detection of Ptaquiloside and Quercetin in Certain Indian Ferns. *Curr. Sci.*, **2012**, *102* (12), 1683–1691.
 49. Gutierrez, A. C.; Gehlen, M. H. Time Resolved Fluorescence Spectroscopy of Quercetin and Morin Complexes with Al³⁺. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2002**, *58* (1), 83–89.
 50. Hamburger, M. *Isatis Tinctoria* – From the Rediscovery of an Ancient Medicinal Plant towards a Novel Anti-Inflammatory Phytopharmaceutical. *Phytochem. Rev.*, **2002**, *1* (3), 333–344.
 51. Speranza, J.; Miceli, N.; Taviano, M. F.; Ragusa, S.; Kwiecień, I.; Szopa, A.; Ekiert, H. *Isatis Tinctoria* L. (Woad): A Review of Its Botany, Ethnobotanical Uses, Phytochemistry, Biological Activities, and Biotechnological Studies. *Plants*, **2020**, *9* (3), 298.
 52. Bhute, A. Plant Based Dyes and Mordant: A Review. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, **2012**, *2* (6), 649–664.
 53. Haar, S.; Schrader, E.; Gatewood, B. M. Comparison of Aluminum Mordants on the Colorfastness of Natural Dyes on Cotton. *Cloth. Text. Res. J.*, **2013**, *31* (2), 97–108.
 54. Fox, J.; Leanage, A. R and the Journal of Statistical Software. *J. Stat. Softw.*, **2016**, *73* (2).
 55. Bunn, A. G. A Dendrochronology Program Library in R (DplR). *Dendrochronologia*, **2008**, *26* (2), 115–124.
 56. Rinnan, Å.; Booksh, K. S.; Bro, R. First Order Rayleigh Scatter as a Separate Component in the Decomposition of Fluorescence Landscapes. *Anal. Chim. Acta*, **2005**, *537* (1), 349–358.

57. Genestar, C.; Pons, C. Earth Pigments in Painting: Characterisation and Differentiation by Means of FTIR Spectroscopy and SEM-EDS Microanalysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, 382 (2), 269–274.
58. *Pigment Compendium: A Dictionary and Optical Microscopy of Historical Pigments*, New ed.; Eastaugh, N., Ed.; Elsevier, Butterworth-Heinemann: Amsterdam, 2008.
59. O'Brien, W. J. A Study of Lithopone. *J. Phys. Chem.*, **1915**, 19 (2), 113–144.
60. Gonzalez, V.; Calligaro, T.; Wallez, G.; Eveno, M.; Toussaint, K.; Menu, M. Composition and Microstructure of the Lead White Pigment in Masters Paintings Using HR Synchrotron XRD. *Microchem. J.*, **2016**, 125, 43–49.
61. van Driel, B.; Artesani, A.; van den Berg, K. J.; Dik, J.; Mosca, S.; Rossenaar, B.; Hoekstra, J.; Davies, A.; Nevin, A.; Valentini, G.; et al. New Insights into the Complex Photoluminescence Behaviour of Titanium White Pigments. *Dyes Pigments*, **2018**, 155, 14–22.

8. LISAD

Lisa 1

Kollased pigmendid

Kollane ooker (ingl *gold ochre, yellow ochre*): $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Ooker on naturaalne ühend, mis sisaldab ränidioksiidi ja savi. Ookrite värvused sõltuvad raudoksiidi veesisaldusest. Näiteks punane ooker ei sisalda vett, kuid kollane sisaldab. Kollast ookrit teatakse juba Antiik-Egiptusest ja Antiik-Roomast [22].

Massikot (ingl *massicot*): PbO

Massikoti saadakse valge plii vaikselt kuumutamisel. Kuumutamise tagajärjel tekib plii-monooksiid. Massikotil on samasugused keemilised omadused kui pliivalgel. Keemiliselt on massikot vastupidav valgusele, kuid pikaajalise valguse peale paistmisel võib see muutuda tagasi valgeks pliiks [22].

Kroomkollane (ingl *chrome yellow*): PbCrO_4

Kroomkollast saadakse, plii soola lahuse lisamisel leelis-kromaadi või dikromaadi lahusele. Kroomkollase värvus võib varieeruda kollasest oranžini, olenevalt osakeste suurustest. Tavaliselt koosnevad kollakamad pigmendid pliiisulfaadist ja mittelahustuvatest plii sooladest ja oranžid pigmendid pliiikromaadist. Pigmendina teatakse seda ühendit juba 19. sajandist, tootma hakati seda 1818 aastal [22].

Baariumkollane (ingl *barium yellow, strontium yellow, lemon yellow*): BaCrO_4

Baariumkollast saadakse segades kokku kaaliumkromaati ja baariumkloriidi. Baariumkollane on vees vähe lahustuv, kuid lahustub hästi lahjendatud leelistest ja mineraalhapetes, laguneb kõrgetel temperatuuridel, kuid valgus mõjutab vähe. Vauquelin kirjeldas baariumkollase saamist juba 1809. aastal, kuid esialgu ei kasutatud seda pigmendina [22].

Auripigment (ingl *orpiment, king's yellow*): As_2S_3

Auripigment oli minevikus laialdaselt kasutusel, eriti idapiirkonnas, kuid tänaseks on see turult kadunud - suuresti selle mürgisuse tõttu. Auripigment on kristallilise struktuuriga kõrge murdumisnäitajaga ühend, inertne valguse ja õhu suhtes ning keemiliselt vastupidav lahjendatud hapetele ja leelistele [22].

Kaadmium kollane (ingl *cadmium yellow*): CdS

Kaadmium kollast kasutati pigmendina õli- ja vesivärvides, kuid metalli vähesuse tõttu ei olnud see enne 1840ndaid kaubanduslikult saadaval. Alguses kui kaadmium kollane avastati

Stromeyeri poolt 1817. aastal, oli see valguse, niiskuse ja hapniku suhtes tundlik. Õhus sisalduva niiskusega kokkupuutudes võis tekkida väävelhape, mis reaktsioonil kaadmium sulfiidiga moodustas kaadmium sulfaadi ning selletõttu pigmendi värvus muutus [58].

India kollane (ingl *indian yellow*): $C_{19}H_{16}O_{11}Mg \cdot 5H_2O$

India kollane on orgaaniline pigment, mida varasemalt toodeti Bengalis lehmade uriinist, kellele oli söödetud mango lehti, kuid tänapäevaks on selle tootmine sellisel meetodil keelatud. India kollast kasutati Indias õli- ja vesivärvide tootmisel, sest oli valgusele vastupidav [22].

Punased pigmendid

Kaadmium punane (ingl *cadmium red*): $CdS(Se)$

Kaadmium punast saadakse kui sadestada seleenile kaadmiumsulfaat naatriumsulfitiga. Värvusi saab muuta heledamast tumedamaks kui muuta seleenil väävli sisaldust. Kaadmiumi pigmendid on tänapäeval ühed kõige populaarsemad, sest nad on stabiilsed ja inertsed valgusele. Esimest korda mainiti kaadmiumi punaseid-oranže pigmente 1892. aastal ühes Saksa patendis, kuid nende tootmine ei alanud enne 1910. aastat [22].

Kinaver (ingl *vermilion, cinnabar*): HgS

Kinaver oli 1. sajandi kõige puhtam punane, mida toodeti elavhõbeda maagist. Sel ajal kaevandati kinaveri kõige rohkem Hispaanias, kuid arvatakse, et esimest korda avastati kinaver Türgis. Sideaineta kinaver ei sobinud kasutamiseks päikese- ega kuuvalguse käes, sest värv muutus mustaks. Selle vastu aitas kinaveri katmine õli ja vaha kihiga. Sellist värvimuutust ei juhtunud aga kõigi elavhõbe sulfiidi baasil olevate värvidega, vaid ainult sellistega, mis sisaldasid kloori või olid kokku puutunud halogeenidega [58].

Valged pigmendid

Litopoon (ingl *lithopone*): $BaSO_4 \cdot ZnS$

Litopooni saamiseks tuleb segada kokku tsinksulfaat ja baariumsulfiidi lahus. Tavaliselt kasutatakse 30% tsinksulfaati ja ülejäänud moodustab baariumsulfiid [59]. Litopoon on vähese läbipaistvusega valget värvi ühend, mis on mineraalhapetes vähelahustuv. John Orr oli esimene inimene, kes tootis ja patenteeris litopooni 1874. aastal [22].

Kips (ingl *plaster, gypsum*): $CaSO_4 \cdot 2H_2O$

Kips on üks tähtsaimaid toormaterjale, mida on kunstis kasutatatud. Kuid ilma põletamata kipsi kunstis palju ei kasutata. Keemiliselt on kips stabiilne, madala murdumisnäitajaga ja vees vähelahustuv. Paremini lahustub see soolhappes [22].

Kriit (ingl *chalk*): CaCO_3

Kriiti esineb naturaalselt ühe kaltsiumkarbonaadi vormina. Omadustelt on see stabiilne, habras, valge, hallikas või kollakas ning tugeval kuumutamisel muutub kaltsiumoksiidiks. Seda kasutatakse odavates värvides lisandi ja täiteainena [22].

Pliivalge (ingl *lead white*): $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb(OH)}_2$

Pliivalge on kahe ühendi, pliikarbonaadi ja pliihüdroksiidi segu. Esimene neist on sarnane kaltsiumkarbonaadi struktuuriga ja pliihüdroksiid on struktuurselt romboeeder. Romboeeder on rööptahuka erijuhtum, kus küljed on rombid. Pliivalget kasutati juba antiikajast üle maailma, selle süntees arendati välja 16. sajandil Hollandis. 18. sajandil üritati sünteesi protsessi muuta, kuid tulutult. Peale 20. sajandit keelati pliivalge müümine mürgisuse tõttu ära [60].

Titaanvalge (ingl *titanium white*): TiO_2

Titaanvalge on tänapäeval üks kasutatum valge pigment, näiteks kasutatakse seda nii kunstis kui ka meigitoodetes. Enamjaolt on titaandioksiid anataasi vormis, anataasi vormis neeldab titaandioksiid UV valgust ja aktiveerib fotokatalüütilised omadused. Kasutatades titaandioksiidi anataasi vormi värvides võib esile tuua värvimuutusi. Esimest korda toodeti titaanvalge pigmente 20. sajandil baariumsulfaadist ja anataasi vormis olevast titaandioksiidist [61].

Rohelised pigmendid

Koobaltroheline (ingl *cobalt green*): $\text{CoO} \cdot \text{ZnO}$

Koobaltrohelist saadakse kui tsinkoksiidi ja vee segule lisatakse koobalti soola, kuivatatakse ja kaltsineeritakse (tahke aine lagundatakse kuumutamise teel) [58]. Lõppsaaduses on koobaltoksiidi osakaal võrreldes tsinkoksiidi omaga palju väiksem. Koobaltroheline värvus ei muutu eriliselt kui koobalti soola rohkem lisada. Koobaltroheline on stabiilne pigment, mida saab kasutada erinevates segudes. Kõrgel temperatuuril ja leelisega kokkupuutudes ei juhtu sellega midagi, kuid koobaltroheline on lahustuv kontsentreeritud hapetes. Koobaltroheline avastati 1780. aastal Rinmanni poolt, kuid kasutusele tuli see alles 19. sajandil, sest varem polnud tsinkoksiidi suurtes kogustes saadaval [22].

Malahhiit (ingl *malachite*): $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$

Malahhiit on levinud mineraal, mida leidub Inglismaal, Ameerikas, Venemaal, Prantsusmaal, Austraalis ja väikeses koguses ka Hiinas, kuid tänapäeval saab seda kõige rohkem Venemaalt ja Kongost. Pigmentina kasutades tuli malahhiiti purustada, peenestada ja pesta, kuid tänapäeval kasutatakse seda pigmenti pigem harva [22, 58]. Malahhiit laguneb hapete toimel ja kui seda kuumutada, kuid on vastupidav valgusele [22].

Smaragdroheline (ingl *emerald green, paris green*): $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{Cu}(\text{AsO}_2)_2$

Smaragdrohelist valmistati esimest korda 1814. aastal Saksamaal. Kõige tähtsamateks lähteproduktideks on vask, etaanhape, arseen ja naatriumkarbonaat. Smaragdrohelise saamiseks tuleb need ained segada, pesta ja kuivatada. Seda pigmenti ei kasutata tänapäeval palju, sest on mürgine, raske käsitleda ning muutub mustemaks kui puutub kokku pigmentidega, mis sisaldavad väävlit [22].

Sinised pigmendid

Koobaltsinine (ingl *cobalt blue*): $\text{CoO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$

Koobaltsinine on tänapäeval koobalti pigmentidest kõige tähtsam. Koobaltsinine on stabiilne, ei ole mõjutatud tugevatest happetest ja alustest ning valgusest. Seda saadakse koobaltoksiidi ja alumiiniumhüdroksiidi segu kuumutamisel, nagu koobaltroheline saamisel on ka siin koobaltoksiidi osakaal väiksem. Koobaltsinine avastati 1802. aastal Thénardi poolt [22].

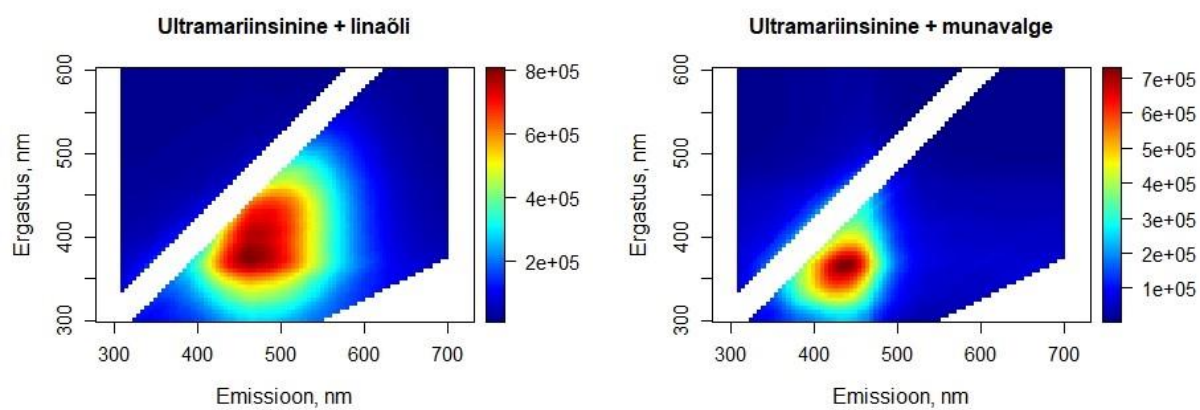
Indigosinine (ingl *indigo, woad*): $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$

Indigosinist kasutati Aasias maalide ja riiete värvimiseks. Värv saamiseks tuli alguses taimi leotada ja lasta neil käärida, peale seda kuivatati ja peenestati pulbriks, et pigmentina kasutada. Tänapäeval kasutatakse sünteetilist indigosinist rohkem kui looduslikku, sünteesi protsessi avastas Baeyer 1880. aastal. Indigosinine on keemiliselt väga vastupidav, ei lahustu vees, alkoholis, eetris ega soolhappes, kuid päikesevalguse käes võib kaotada oma värvi [22].

Asuriit (ingl *azurite*): $2\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$

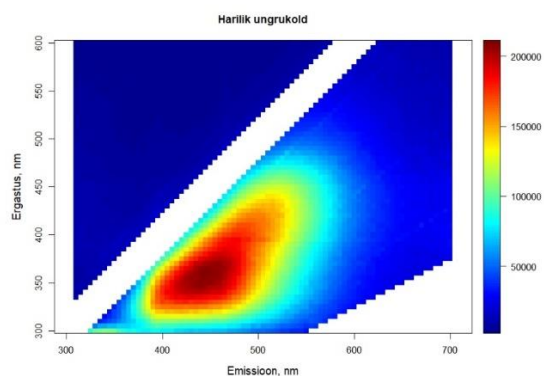
Asuriiti saadakse mineraalist, selle värvus võib muutuda soojuse ja soojendatud aluste tõttu tumedaks ning asuriit lahustub hapetes. 15. sajandist 17. sajandini oli asuriit kõige tähtsam sinine pigment, kuid tänapäeval kasutatakse seda harva [22].

Lisa 2



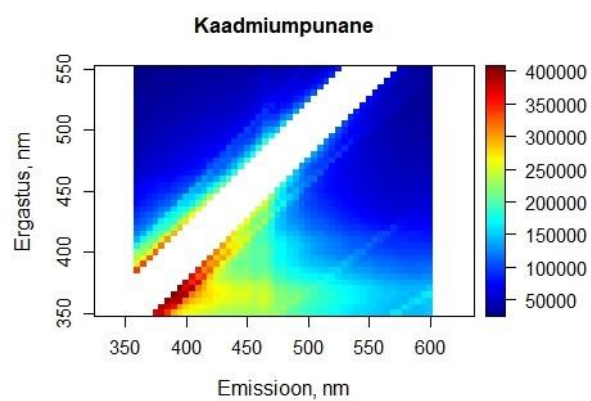
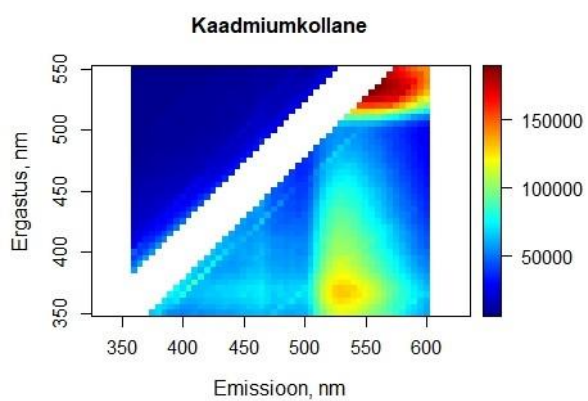
Joonis 1. Ultramariinsinine linaseemneõliga ja munavalgega EEM spektrid

Lisa 3



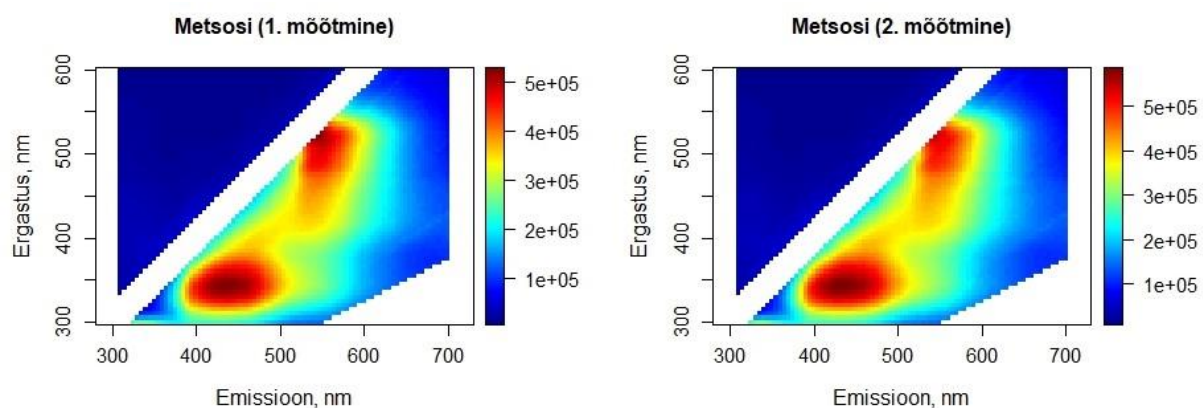
Joonis 2. Hariliku ungrukoldi EEM spekter

Lisa 4

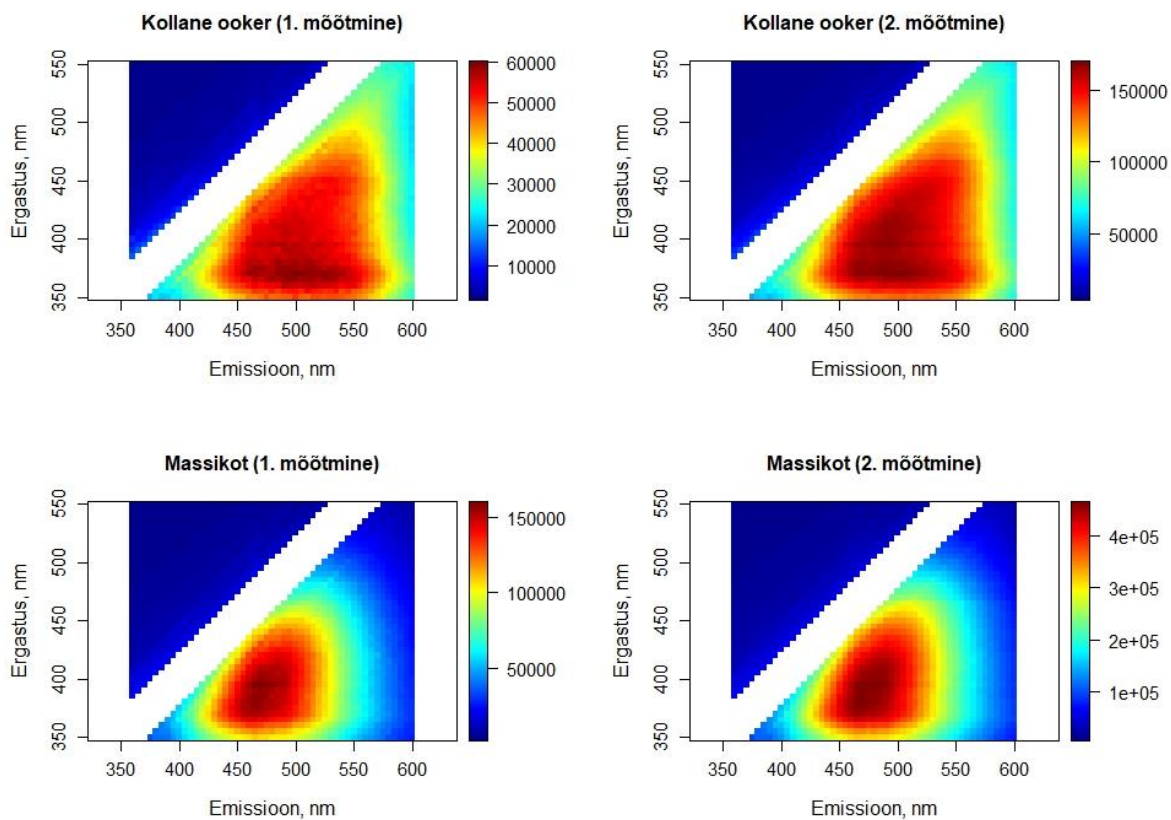


Joonis 3. Kaadmiumkollase ja kaadmiumpunase EEM spektrid

Lisa 5



Joonis 4. EEM spektrid: metsosi (1. mõõtmine, 18.12.2020) ja metsosi (2. mõõtmine, 01.04.2021)



Joonis 5. EEM spektrid: kollane ooker (1. mõõtmine, 23.03.2020), kollane ooker (2. mõõtmine, 09.09.2020), massikot (1. mõõtmine, 23.03.2020) ja massikot (2. mõõtmine, 09.09.2020)

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Elsa Vanker,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose
Pigmentide ja värvainete 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
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
24.05.2023 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

19.05.2021