

**Optimización de técnicas
espectrométricas y separativas para la
identificación de material colorante en
patrimonio cultural**



Universidad de Granada

Memoria presentada para optar al Grado de

**DOCTOR EN QUÍMICA
CON MENCIÓN INTERNACIONAL**

por la Universidad de Granada

Programa: QUÍMICA

Ana M^a López Montes

Granada, 2015

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: Ana María López Montes

ISBN: 978-84-9125-415-7

URI: <http://hdl.handle.net/10481/41724>

Directores de Tesis Doctoral:

Dra. María del Rosario Blanc García

Dpto. Química Analítica, Universidad de Granada

Dra. Teresa Espejo Arias

Dpto. de Pintura, Universidad de Granada

Dra. Anne-Laurence Dupont

Centre de Recherche sur la Conservation, Musée national d'Histoire naturelle
CNRS Paris (Francia)

Dña. M^a Rosario Blanc García, Profesora Titular del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada,

CERTIFICA

que el trabajo que se presenta en esta Tesis Doctoral, con el título: OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS Y SEPARATIVAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MATERIAL COLORANTE EN PATRIMONIO CULTURAL, ha sido realizado bajo mi dirección y la de las profesoras Dña. Teresa Espejo Arias del Departamento de Pintura de la Universidad de Granada y Dña. Anne-Laurence Dupont, del Centre de Recherche sur la Conservation CRC (MNHN-CNRS) en París (Francia), y que reúne todos los requisitos para poder optar al Grado de Doctor con Mención Internacional.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado en Granada el 3 de noviembre de 2015.

La doctoranda Dña. Ana María López Motes y los directores de la tesis Dña. M^a del Rosario Blanc García, Dña. Anne-Laurence Dupont y Dña. Teresa Espejo Arias garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

En a de de 2015

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.: M^a Rosario Blanc García

Fdo.: Ana M^a López Montes



Fdo.: Anne-Laurence Dupont

Fdo.: Teresa Espejo Arias

Agradecimientos

Debo comenzar agradeciendo a mis directoras, las doctoras Rosario Blanc, Teresa Espejo y Anne-Laurence Dupont, el interés dedicado, el esfuerzo continuo y los consejos regalados para la elaboración de esta Tesis Doctoral.

Y debo sumar a este agradecimiento el apoyo que me han ofrecido todos los profesores y colegas de los departamentos de Química Analítica y de Pintura de la Universidad de Granada, en especial a D. José Luis Vílchez y D. Alberto Navalón por acogerme, desde hace más de una década, en su grupo de investigación y hacerme un agradable hueco en los laboratorios. Recuerdo que el primer día José Luis me animó a ir haciendo unas medidas sencillas mientras llegaba un técnico de apoyo para completar mi investigación en Bellas Artes. El técnico de apoyo aun no ha llegado. . .

Gracias también al director del Archivo de la Real Chancillería de Granada, D. David Torres, por las facilidades ofrecidas para el acceso a los fondos y sus bienvenidas aportaciones.

También quiero recordar a todos mis compañeros que han ido pasando cerca de mí (y que se han quedado conmigo de alguna manera) mientras realizaban sus doctorados, estancias o proyectos de investigación, a los colegas de congresos. . . para agradecerles su ayuda incondicional. Entre tantos reencuentros y despedidas confío en que seguiremos compartiendo ciencia y brindando por nuestros logros profesionales y personales, aunque haya tantos kilómetros de separación con la mayoría de vosotros (hasta Francia, Inglaterra, Suiza, Chile, Japón. . .).

Merci aussi à mes collègues d'Orléans et Paris pour leur très précieuse collaboration et amitié.

Gracias también a toda mi familia, que me ha apoyado de manera directa e indirecta para poder dedicar tiempo (¡y más tiempo aun!) a la investigación.

A mis padres Pepe y Toñi por animarme y estar siempre seguros de que acabaría con este trabajo. Pese a todas las dificultades que han ido apareciendo, sé que lo estáis disfrutando aun más que yo.

Y tan cercanos como mi familia han sido mis amigos, ofreciendo todas las facilidades para que mi mente pudiera dedicarle tiempo a esta empresa que he conseguido concluir.

Por último tengo que dar las gracias, una y otra vez, a Francisco, León y Simón por soportar mi ausencia en tanto tiempo como les he robado.

Y a todos los que de algún modo habéis hecho posible este trabajo, GRACIAS.

*A la memoria de mi padre, quien se convirtió de nuevo en polvo de estrellas en
septiembre de 2015.*

A quienes me roban y me dan mis mejores sueños: León y Simón

)(

Índice general

Antecedentes	29
Objetivos	35
Metodología	37
Configuración y proceso de investigación	39
I El material colorante y las técnicas de análisis	43
1. Colorantes y las técnicas de análisis	45
1.1. Généralités concernant la couleur	45
1.1.1. Interaction lumière-matière : Transmission-réfraction, absorption et réflexion spéculaire ou diffuse.	47
1.2. La couleur dans le patrimoine culturel: des colorants naturels aux colorants synthétiques	48
1.3. Classification, représentation et catalogage des matières colorants .	51
1.3.1. Classification des colorants	52
1.3.1.1. Classification par constitution chimique	52
1.3.1.2. Classification par propriétés et applications	55
1.3.2. Représentation dans l'espace Munsell	57
1.3.3. Catalogage selon la nomenclature « Colour Index »	60
1.4. Colorantes objeto de estudio	65
1.4.1. Colorantes naturales	65
1.4.1.1. Colorantes naturales para escritura y decoración .	65

1.4.2.	Colorants sintéticos	72
1.4.2.1.	Colorantes sintéticos para autocromos	73
1.4.2.2.	Les colorants synthétiques pour textiles	78
1.5.	Técnicas analíticas y metodología	80
1.5.1.	Técnicas ópticas	83
1.5.1.1.	Colorimetría	83
1.5.1.2.	Espectrometría Uv-vis	85
1.5.1.3.	Espectrometría de absorción por reflexión difusa	89
1.5.1.4.	Espectrometría de fluorescencia de rayos X	91
1.5.1.5.	Técnicas de análisis empleadas en colaboración con otros investigadores	95
1.5.2.	Técnicas separativas	96
1.5.2.1.	Cromatografía líquida de alta eficacia	96
1.5.2.2.	Electroforesis capilar	101
1.5.2.3.	Sistemas de detección para HPLC y CE	108
1.5.2.4.	Comparación entre los métodos de separación em- pleados.	110
1.6.	Resumen / Abstract / Résumé	112

II Identificación y caracterización de materiales 115

2.	Identificación de materiales colorantes tras un proceso de enveje- cimiento acelerado	117
2.1.	Introducción	119
2.2.	Materiales y métodos	121
2.2.1.	Materiales, reactivos y disolventes	121
2.2.2.	Instrumentación y programas informáticos	122
2.2.3.	Preparación de las muestras	122
2.2.3.1.	Extracción de los colorantes	122
2.2.3.2.	Preparación de las muestras para el envejecimiento artificial	123
2.2.3.3.	Toma y tratamiento de muestra para análisis	124
2.2.4.	Metodología analítica aplicada	124
2.2.4.1.	Condiciones del envejecimiento artificial acelerado	125
2.2.4.2.	Espectrofotometría UV-vis	125

2.2.4.3. Cromatografía líquida de alta eficacia	125
2.3. Resultados y discusión	126
2.3.1. Rojo de Rubia	126
2.3.2. Amarillo de azafrán	129
2.3.3. Azul de índigo	131
2.3.4. Rojo de carmín	135
2.3.5. Amarillo de goma guta	138
2.4. Conclusiones	141
3. Identificación simultánea de colorantes rojos naturales y goma arábica en pergaminos manuscritos mediante Electroforesis Ca- pilar	145
3.1. Introducción	148
3.2. Materiales y métodos	151
3.2.1. Materiales, reactivos y disolventes	151
3.2.2. Instrumentación y programas informáticos	152
3.2.3. Preparación de las muestras	153
3.2.3.1. Sustancias de referencia	153
3.2.3.2. Muestra de laboratorio	153
3.2.3.3. Toma y tratamiento de las muestras de pergaminos	154
3.3. Metodología analítica empleada	154
3.3.1. Espectrofotometría UV-vis	154
3.3.2. Electroforesis capilar	155
3.4. Resultados y discusión	155
3.4.1. Espectrofotometría UV-vis	155
3.4.2. Optimización del método electroforético	156
3.4.2.1. Optimización de las variables experimentales	157
3.4.2.2. Optimización de las variables instrumentales	164
3.4.3. Aplicación del método	169
3.4.3.1. Muestra de laboratorio	170
3.4.3.2. Muestra de la colección de pergaminos	170
3.5. Conclusiones	177

4. Les colorants rouges (XIXe et XXe) de la collection provenant de l'Institut Supérieur Industriel de Verviers (Belgique) : étude historique et spectrophotométrique	179
4.1. Introduction	182
4.1.1. L'Institut Supérieur Industriel Textile	182
4.1.2. Les entreprises productrices des colorants	183
4.2. Matériaux et méthodes d'analyses	185
4.2.1. Matériaux, réactifs et solvants	185
4.2.2. Instrumentation	186
4.2.3. Préparation des échantillons	186
4.2.3.1. L'étude par spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse et spectrométrie de fluorescence X	186
4.2.3.2. L'étude par spectrométrie UV-vis	187
4.2.4. Méthodes d'analyses	188
4.2.4.1. La spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse	188
4.2.4.2. La spectrométrie UV-vis	188
4.2.4.3. La spectrométrie de fluorescence X	188
4.2.4.4. La colorimétrie	189
4.3. Résultats et discussion	189
4.3.1. Résultats des analyses selon le nom commercial	189
4.3.1.1. Résultats de l'étude par spectrométrie de fluorescence X	193
4.3.2. Résultats des analyses selon le Colour Index TM Generic Name	198
4.3.3. Constitution chimique	212
4.4. Conclusion	215
5. Identification of synthetic dyes in early colour photographs using capillary electrophoresis and electrospray ionization – mass spectrometry	217
5.1. Introduction	220
5.2. Experimental	223
5.2.1. Materials	223
5.2.2. Sample preparation	224
5.2.3. Analytical procedures	224
5.2.3.1. UV-visible spectroscopy	224

5.2.3.2.	CE	225
5.2.3.3.	ESI-ITMS	225
5.3.	Results and discussion	226
5.3.1.	UV-vis	226
5.3.2.	Optimisation of the CE-PDA method	228
5.3.2.1.	Electrolyte	228
5.3.2.2.	Instrumental parameters	232
5.3.3.	Optimisation of the CE-ESI-MS methodology	233
5.3.3.1.	CE-ESI-MS(+) for cationic dyes	236
5.3.3.2.	CE-ESI-MS(−) for anionic dyes	243
5.3.4.	Identification of the dyes in the filmcolor photograph	244
5.4.	Conclusion	247
6.	Analysis of a royal 15th Century illuminated parchment using a portable XRF-XRD system and micro-invasive techniques	249
6.1.	Introducción	252
6.2.	Experimental methods	254
6.2.1.	The privilegio rodado of the Archive of the Royal Chancellery	254
6.2.2.	Analytical techniques	256
6.3.	Results and discussion	258
6.3.1.	Unpainted zones and text area	258
6.3.2.	Writing ink	261
6.3.3.	Gold and silver	261
6.3.4.	Painted areas: yellow, blue, red, pink, green, white and black	264
6.4.	CONCLUSIONS	270
7.	Conclusion	271
	Perspectivas	275
	Bibliografía	277
A.	Fichas descriptivas de los pergaminos seleccionados de la colección del Archivo de la Real Chancillería de Granada.	293

B. Fiche de description de la sélection des colorants de la collection de l'Institut Supérieur Industriel Textile de Verviers	323
C. MS and MS² spectra of synthetic dyes in colour photographs	415

Índice de figuras

1.1. Spectre électromagnétique dans le domaine du visible.	46
1.2. Schéma de réflexion spéculaire et réflexion diffuse.	48
1.3. Schéma de la classification par constitution chimique	53
1.4. Schéma de colorant réactif avec un groupe monochlorotriazine. . .	54
1.5. Schéma de colorant réactif avec un groupe trichloropyrimidine. . .	55
1.6. Schéma de la classification par propriétés et applications	56
1.7. Modèle d'espace Munsell 7.5 R.	57
1.8. Munsell Color Space (Gracieuseté de Munsell Colour Services, A Division of GretagMacbeth).	58
1.9. Munsell Color Space. Teinte.	59
1.10. Munsell Color Space. Clarté.	59
1.11. Munsell Color Space. Saturation.	60
1.12. Estructura química del alizarín.	67
1.13. Estructura química del purpurín.	67
1.14. Estructura química del indigotín.	68
1.15. Estructura química del crocetín.	69
1.16. Estructura química del ácido carmínico.	70
1.17. Estructura química del ácido gamboico.	70
1.18. Estructura química de brazilina.	71
1.19. Estructura química de brazileína.	71
1.20. Flacon d'un colorant rouge de la collection de Verviers.	73
1.21. Estructura química de los colorantes catiónicos seleccionados em- pleados en autocromos.	76
1.22. Estructura química de los colorantes aniónicos seleccionados em- pleados en autocromos.	77

1.23. Representación gráfica del espacio $L^*a^*b^*$	85
1.24. Esquema de un espectrofotómetro Uv-vis.	87
1.25. Modelo de espectro Uv-vis-IR.	88
1.26. Esquema básico de un equipo de absorción por reflexión difusa. . .	90
1.27. Ejemplo de representación gráfica de un espectro de absorción por reflexión difusa y su primera derivada.	90
1.28. Esquema de la acción de la radiación incidente de los rayos X pri- marios.	92
1.29. Esquema descriptivo de la fuente de espectrometría de fluorescencia de rayos X.	93
1.30. Espectro de fluorescencia de rayos X.	94
1.31. Esquema del proceso de elución cromatográfica.	97
1.32. Esquema básico de un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia.	97
1.33. Esquema básico de un cromatograma.	99
1.34. Esquema básico de un equipo de electroforesis capilar	105
1.35. Diagrama básico de un electroferograma.	106
1.36. Esquema de del instrumento para ionización por electronebulización.	109
2.1. Situación de las muestras en el interior de la cámara de envejecimiento.	124
2.2. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de rojo de Rubia. . .	126
2.3. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de rojo de Rubia. . .	127
2.4. Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de rojo de Rubia.	128
2.5. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de amarillo de azafrán.	129
2.6. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de amarillo de azafrán.	130
2.7. Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de ama- rillo de azafrán.	131
2.8. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de azul de índigo. . .	132
2.9. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de azul de índigo. . .	132
2.10. Cromatogramas y Espectro UV-vis de azul de índigo.	134
2.11. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de rojo de carmín. . .	135
2.12. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de rojo de carmín. .	136
2.13. Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de rojo de carmín.	137

2.14. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de amarillo de goma guta.	139
2.15. Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de amarillo de goma guta.	139
2.16. Cromatograma y Espectro UV-vis de amarillo de goma guta.	140
2.17. Muestra amarilla del mapa 11 del la colección Dibujos, mapas y planos del Archivo de la Real Chancillería de Granada (España).	143
3.1. a) ácido D-glucurónico; b)L- ramnosa; c) L-arabinosa; d) D-galactosa.	150
3.2. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del electrolito soporte HPO_4^{-3} . Tampón PDC 20 mM, CTAB 0,5 mM y PO_4^{-3} ; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	159
3.3. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del inversor de flujo CTAB. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB ; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	160
3.4. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del cromóforo PDC. Tampón PO_4^{-3} 20 mM, CTAB 0,5 mM y PDC; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	161
3.5. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio del pH. Tampón PDC 20 mM, HPO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	162

3.6. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio del modificador orgánico. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	163
3.7. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la temperatura. Tampón PDC 20 mM , PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	164
3.8. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la aplicación de voltaje. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 25 °C. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	165
3.9. Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la aplicación de la inyección de la muestra. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 20 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	166
3.10. Electroferogramas de la mezcla patrón obtenidos tras la optimización del método. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM ; pH 12,1; T^a 20 °C; -20 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.	168
3.11. Capa de color de rojo de carmín preparada en el laboratorio para validar el método. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 20 °C; -20 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (9) ácido carmínico.	170

3.12. Imágen de pergamino, referencia: ES.18087. ARCHGR / 060CDMA // Pergamino nº 36.	175
3.13. Electroferogramas de la muestra procedente del pergamino nº 36. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (9) ácido carmínico.	176
3.14. Imágen de pergamino, referencia: ES.18087. ARCHGR / 060CDMA // Pergamino nº 52.	176
3.15. Electroferogramas de la muestra procedente del pergamino nº 52. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (8) brazi- leina; (9) ácido carmínico.	177
4.1. Structure du support.	187
4.2. Coordonnées colorimétriques a* et b* des colorants rouges par « nom générique » selon le système CIE L*a*b*2000	192
4.3. Structure moléculaire de C.I. Acide rouge 114.	196
4.4. Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83.	200
4.5. Spectres UV-vis des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83.	201
4.6. Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83 dans le système CIE L*a*b*2000.	201
4.7. Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 147.	202
4.8. Spectres d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 147.	203
4.9. Représentation graphique des colorants du groupe Réactif rouge 147 dans le système CIE L*a*b*2000.	203
4.10. Photographie des échantillons B8P9, B35P12 et B35P13.	204
4.11. Spectre d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57.	205
4.12. Spectre d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57.	205
4.13. Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57 selon le système CIE L*a*b*2000.	206

4.14. Photographie des échantillons B35P26, B35P27, B39P27, B40P10 et B40P42.	207
4.15. Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114.	207
4.16. Spectres d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114.	208
4.17. Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114 dans le système CIE L*a*b*2000.	209
4.18. Photographie des échantillons B26P16, B26P18, B35P28 et B39P22.	209
4.19. Schéma de base de la structure d'un colorant réactif.	213
4.20. Schéma de base de la structure du colorant réactif C.I. Réactif rouge 114.	214
5.1. Structure and composition of an autochrome plate.	221
5.2. Electropherograms obtained with a mixture of two cationic dyes – (1) TT: Thioflavin T and (2) CG: Chrysoïdine G- and four anionic dyes – (3)CH: Chrysophenine, (4) RB: Rose Bengal, (5) DII: Diiodofluoresceïn and (6) EB: Eosin B - with different concentrations of the running buffer.	229
5.3. Optimisation of the running buffer: nature of the organic solvent (a) and acetonitrile concentration (b).	231
5.4. Electropherograms of the dyes (separate single injections): Capillary: 50 µm i.d., L= 60 cm; electrolyte: 50 mM ammonium acetate with 15 % (v/v) acetonitrile pH 9; temperature 20°C; applied voltage 20 kV; analysis time 20 min, hydrodynamic injection at 1 psi for 4 s, PDA detection.	233
5.5. Superimposed EIEs of the cationic dyes (a) and the anionic dyes (b) (single injections).	235
5.6. Influence of different organic solvents used in the composition of the sheath liquid on the MS signal intensity.	236
5.7. Influence of the concentration of MeOH in the sheath liquid on the MS signal intensity.	237
5.8. Original box of filmcolor.	244

5.9. MS and MS2 spectra of a few the dyes identified in the filmcolor sample. As example: (a) FB (m/z 362.8, MS2: 226.8), (b) RH6G (m/z 443.2, MS2: m/z 415.1), (c) RB (m/z 992.5). Complete spectra can be found in the annex 2. 245

6.1. Areas analysed on the parchment: (1) zone without text; (2) text area; (3) background of the small coat of arms; (4) castle in the rota of the signum regis (gilding); (5) lion in the rota of the signum regis (gilding); (6) yellow colour in the capital letter (gilding); (7) decorative letters surrounding the rota of the seal within the signum regis (silvering); (8 and 9) yellow colour in two areas of the capital letter; (10) yellow colour in the signum regis; (11) blue colour at the top of the signum regis; (12) blue colour at the bottom of the signum regis; (13) blue colour in the background of the small coat of arms; (14) reddish pink colour in the capital letter; (15) red colour in the base of the castle in the signum regis; (16) green colour in the capital letter; (17) black colour of the drawing in the capital letter; (18) blue colour in the capital letter. 256

6.2. XRD diagrams corresponding to areas: (a) where there is no text (1 in Fig. 6.1), (b) on the text area (2 in Fig. 6.1) [C = calcite, Gy = gypsum]. 260

6.3. XRF spectra collected on areas: (a) where there is no text, (b) on the text area, corresponding to XRD's of Fig. 6.2 (Cu-Ka line at E = 8.04 keV is due to the X-ray source). 261

6.4. XRF spectra collected on gilded areas: (a) the castle in the rota of the seal (4 in Fig. 6.1), (b) the lion in the rota of the seal (5 in Fig. 6.1); and silvery zones: (c) letters surrounding the rota of the seal (7 in Fig. 6.1). 262

6.5. XRD diagrams corresponding to gilded areas: (a) the castle in the rota of the seal (4 in Fig. 6.1), (b) the lion in the rota of the seal (5 in Fig. 6.1); and silvery zones; (c) letters surrounding the rota of the seal (7 in Fig. 6.1) [Cin = cinnabar (vermilion), Au = gold, C = calcite, M =minium, Gy = gypsum, Ag = silver]. 263

6.6.	XRF spectra collected on: (a) yellow colour of the signum regis (10 in Fig. 6.1) and of the capital letter (8 in Fig. 6.1), (b) blue colour at the top and the bottom of the signum regis (11 and 12 in Fig. 6.1), (c) red colour of the castle in the rota of the seal (15 in Fig. 6.1).	265
6.7.	XRD diagrams corresponding to: (a) yellow colour of the signum regis (10 in Fig. 6.1), (b) blue colour in the top of the signum regis (11 in Fig. 6.1), (c) blue colour at the bottom of the signum regis (12 in Fig. 6.1), (d) red colour of the castle in the rota of the seal (15 in Fig. 6.1), (e) green colour in the capital letter (16 in Fig. 6.1) [LTY = lead tin yellow type I, Gy = gypsum, C = calcite, Az = azurite, Hy = hydrocerussite (white lead), Cin = cinnabar (vermilion), Cer = cerussite (white lead), Mch = malachite].	266
6.8.	Electropherograms of: (a) yellow area of the capital letter (9 in Fig. 6.1), showing the presence of gamboge (gambogic acid, GC), (b) blue areas of the signum regis (12 in Fig. 6.1), showing the presence of indigo (indigotin, IND).	267
6.9.	SEMeEDX analysis from the outer limits of the capital letter and the vegetable themes in black (17 in Fig. 6.1).	268

Índice de tablas

1.1. Classification par l'application tinctoriale.	62
1.2. Classification par la structure chimique.	63
1.3. Distribution des colorants textiles.	64
1.4. Colorantes naturales seleccionados.	66
1.5. Information basique sur les colorants textiles sélectionnés I.	79
1.6. Information basique sur les colorants textiles sélectionnés II.	80
1.7. Resumen	112
1.8. Abstract	113
1.9. Résumé	114
3.1. Longitudes de onda de absorción máxima de los analitos estudiados y longitud de onda optimizada para su identificación.	156
3.2. Valores de pKa de los analitos.	156
3.3. Condiciones óptimas del método electroforético.	169
3.4. Tiempos de migración y longitudes de onda máximas.	169
3.5. Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colec- ción de pergaminos I.	172
3.6. Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colec- ción de pergaminos II.	173
3.7. Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colec- ción de pergaminos III.	174
4.1. Groupes constitués et échantillons indépendants selon l'étude par nom commercial.	191
4.2. Résultats de l'analyse par spectrométrie de fluorescence X.	194

4.3.	Eléments identifiés par spectrométrie de fluorescence X selon le classement par Colour Index™ Generic Names.	196
4.4.	Classement par nom commercial, Colour Index™ Generic Name et fabricant.	211
5.1.	Dyes specification max (optimum wavelengths for the identification is marked in bold) tm and RSD in CE-PDA (optimised conditions) of the synthetic dyes (separate single injections). Capillary: 50 µm i.d., L= 60 cm; electrolyte: 50 mM ammonium acetate with 15 % (v/v) acetonitrile pH 9; temperature 20 °C; applied voltage 20 kV; analysis time 20 min, hydrodynamic injection at 1 psi for 4 s.	227
5.2.	Compound formula, migration time and RSD, precursor ions (Mp) expected (m/z th), Mp found (m/z exp) (in bold) of the reference dyes. Unassigned additional minor peaks from impurities, by-products or adducts are also listed when present (italics + underlined when base peaks). Complete spectra can be found in the annex C.	239
5.3.	I: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS ² : daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS ² base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.	240
5.4.	II: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS ² : daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS ² base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.	241
5.5.	III: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS ² : daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS ² base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). . Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.	242

Antecedentes

El color ha sido, y sigue siendo, uno de los principales protagonistas de la vida. Ha sido empleado para designar categorías, expresar sentimientos y estados de ánimo, indicar símbolos y referencias, incluso para desarrollar la creatividad además de estar vinculado irremediabilmente a la materia. Indudable es su importancia en cualquiera de las facetas del arte, los objetos artísticos, el patrimonio cultural, natural e histórico.

Movidos por el interés en la conservación del patrimonio artístico, la Universidad de Granada se vinculó a instituciones públicas y privadas que tenían, como uno de sus objetivos principales, este mismo fin, surgiendo un grupo de investigación multidisciplinar que se consolidó con los trabajos realizados en proyectos de I+D (Investigación y desarrollo).

En el año 2003, gracias a una beca de investigación asociada al proyecto “Aplicación de nuevas tecnologías a la conservación y restauración del documento gráfico y material de archivo”¹, inicié mi carrera investigadora ligada a la identificación del color. La consecución de becas y contratos de investigación, me llevó a la defensa, en 2006, de la Tesis Doctoral en Bellas Artes titulada “Importancia de la identificación de los componentes del color para la conservación y restauración del documento gráfico. Nuevas metodologías de análisis”. En ella se desarrollaron métodos analíticos usando técnicas cromatográficas y separativas para la identificación de colorantes naturales en documento gráfico. Las aplicaciones se realizaron sobre colecciones de documentos en papel y pergamino pertenecientes al Archivo de la Real Chancillería, el Archivo Histórico Provincial, el Archivo de la Diputación y el Archivo de la Abadía del Sacromonte todos ellos de Granada.

¹Ministerio de Ciencia y Tecnología. Proyecto de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico. Ref. MAT2002-01903.

Los resultados fueron presentados en congresos ², y publicados en artículos

²1) López-Montes, A., Espejo, T., Vilchez, J.L. Identification of dyes and organic pigments by HPLC-PDA and capillary electrophoresis, 34th Archaeometry, Zaragoza (2004).

2) Espejo, T., López-Montes, A., Duran, A., Justo, A. Un nuevo estudio sobre el color en al codicología árabe, VII Ccongreso nacional de color, Pamplona, (2004).

3) López-Montes, A., Espejo, T., Vilchez, J.L., Blanc, R. Lara F.; Navalón, A., Bueno, J. Identification of dyes in documents by capillary electrophoresis, Euroanalysis 2004, Salamanca (2004).

4) Espejo, T., Bueno, J., López-Montes, A., Torres, D. Investigación y desarrollo de nuevos protocolos de análisis para el conocimiento de los documentos de archivo, Congreso internacional de restauración y conservación, Murcia (2005).

5) López-Montes, A., Espejo, T., Torres, D., Bueno, J., Blanc, R., Vilchez J.L. Identification of the ink in the collection of drawings and maps in the Royal Chancellery archives in Granada (Spain) by means of capillary electrophoresis, 10th Congress of the international colour. Association AIC COLOUR 05. Granada, (2005).

6) Bueno, J., Espejo, T., López-Montes, A. Colour as an indication of the start of a new chapter capital letters in illuminated codices, 10th Congress of the international colour. Association AIC COLOUR 05. Granada, (2005).

7) López-Montes, a., Espejo, T., Blanc, R., Vilchez, J.L., Pérez-Rodríguez, J.L. Identification of ink for writing in graphic documents by different analytical techniques, 11as Jornadas de análisis instrumental, Barcelona, (2005).

8) López-Montes, A., Bueno, J., Galán, I., Pérez-Mata, R., Parra-Arcas, P., Espejo T. Metodología para el estudio y restauración de la colección de pergaminos del archivo histórico de la Diputación Provicila de Granada, XVI Congreso de conservación y restauración de bienes culturales, Valencia (2006).

9) López-Montes, A., Plata-Rios, C., Blanc, R., Vilchez, J.L., Espejo, T. Estudios de los cambios inducidos por tratamientos de desacidificación de documentos gráficos, XVI Congreso de conservación y restauración de bienes culturales, Valencia (2006).

10) Espejo, T., Durán, A., López Montes, A., Blanc, R. Application of analytical technologies in the study of paper media in hispano-arabic manuscripts. A model of transition in 15th century Granada, 28th congress IPH. Capellades, Barcelona (2006).

científicos³ y capítulos de libro⁴.

La formación paralela que llevé a cabo para cubrir los objetivos de esa Tesis Doctoral, me condujeron a cursar el programa de doctorado “Química” además de cursos especializados en quimiometría y técnicas separativas a partir del año

³1) López-Montes, A. Nuevas Tecnologías aplicadas en la conservación de los documentos gráficos: identificación de colorantes y aglutinantes orgánicos. Cuadernos de Restauración (2006) 87-98.

2) Blanc, R., Espejo, T., López-Montes, A., Torres, D., Crovetto, G., Navalón, A., Vilchez, J.L. Sampling and Identification of natural dyes in historical maps and drawings by liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatography A* 1122 (2006) 105-113.

3) López-Montes, A., Blanc, R., Espejo, T., Huertas, F.J., Navalón, A., Vilchez, J.L. Simultaneous identification of natural dyes in the Collection of drawings and maps from the Royal Chancellery archives in Granada (Spain) by CE. *Electrophoresis* 28 (2007) 1245-1251.

4) López-Montes, A., Espejo, T., Vilchez, J.L., Blanc, R. Notas sobre la identificación mediante técnicas de análisis químico del amarillo de azafrán envejecido artificialmente. *Óptica Pura y Aplicada* 41 (2008) 261-265.

5) Espejo, T., López-Montes, A., García-Bueno, A., Durán, A., Blanc, R. A study about colorants in the arabic manuscript Collection of the Sacromonte abbey, Granada, Spain. A new methodology for chemical analysis. *Restaurator* 29 (2008) 76-106.

6) López-Montes, A., Blanc, R., Espejo, T., Navalón, A., Vilchez, J.L. Characterization of sepia in ancient Graphics documents by capillary electrophoresis. *Microchemical J.* 93 (2009) 121-126.

7) Espejo, T., Durán, A., López-Montes, A., Blanc, A. Microscopic and spectroscopic techniques for the study of paper supports of Hispano-Arabic manuscripts from Al-Andalus: a transition model in the 15th century. *J. Cultural Heritage* 11 (2010) 50-58.

⁴1) Espejo, T. (dir.), Torres, D., Parra, P., Martín, E., Bueno, J., López Montes, A. (col.) “Recuperando el Patrimonio Documental de Granada, Archivo Histórico Provincial de Granada, Archivo General de la Diputación de Granada” Ed. Universidad de Granada, Granada (2004).

2) Torres, D. (dir.), Espejo, T., López-Montes, A. (col.) “ Colección de mapas y Dibujos del Archivo de la Real Chancillería de Granada.” Ed. Consejería de Cultura de la Junta de Andalucía, Granada (2005) 61-64.

3) Blanc, R., Espejo, T., López-Montes, A., Navalón, A., Crovetto, G., Vilchez, J.L. “ Metodología para la toma de muestra e identificación de colorantes naturales en dibujos y mapas del Archivo Histórico de la Real Chancillería de Granada por Cromatografía Líquida” en “Homenaje al Profesor Don Fermín Capitán: Investigación actual en la Escuela Analítica de Granada” Ed. Universidad de Granada, Granada (2007) 521-541.

4) López-Montes, A. “Analyses of dyes in the map collection of the Real Chancillería of Granada”, en “Art Technology, Sources and Methods”, Ed. Archetype Publications, London (2008) 127-135.

5) López-Montes, A. “Qué es un manuscrito Andalusi” en “El manuscrito Andalusi, hacia una denominación de origen”, Ed. Consejería de Cultura de la Junta de Andalucía, Granada (2008) 61-64.

2005. En el año 2006 defendí el Diploma de Estudios Avanzados en Química con el trabajo titulado “Identificación de colorantes en Documentos Gráficos y material de archivo mediante Electroforesis Capilar”.

Una vez finalizada la Tesis Doctoral en Bellas Artes, los siguientes contratos de investigación para el perfeccionamiento de doctores, estuvieron vinculados a instituciones que realizan estudios científicos de materiales artísticos, lo que me permitió seguir trabajando y profundizando en las aplicaciones de la Química Analítica en el estudio del color.

La compilación de los trabajos realizados desde 2007 hasta hoy, conforman esta memoria de Tesis Doctoral en Química, en la que se parte del estudio del envejecimiento artificial acelerado del grupo de colorantes objeto de la primera Tesis Doctoral, para entender su evolución y conocer la posibilidad de su identificación una vez alterados.

Según la experiencia obtenida en esos años de trabajo, observé que a pesar de que los artistas empleaban técnicas aprendidas de sus antepasados, éstas debieron adaptarse al material y utensilios con los que contaban. A lo largo de la historia, los artistas y artesanos han ido adaptando las herramientas cotidianas de otras labores para su uso particular, por lo que hemos de suponer que los utensilios para la elaboración de los manuscritos evolucionaron por la influencia de la zona geográfica, y esto habrá repercutido en la manufactura dejando marcas visibles. Ejemplos de estas variaciones y marcas identificativas, los encontramos en los trabajos de campo realizados por J. L. Estève, donde demuestra las causas que motivan algunas de las marcas peculiares en la manufactura de manuscritos árabes sobre las que se han pronunciado multitud de teorías, ninguna de ellas demostradas. Asimismo, hemos de suponer que las condiciones climáticas empujaron a crear leves cambios en las recetas para asegurar la estabilidad del material en ambientes húmedos o secos, temperaturas extremas o cambios bruscos de éstas entre otros muchos factores.

A partir de estas modificaciones constatadas de las recetas originales, se trabajó en la adaptación de nuevas técnicas analíticas de identificación y caracterización de colorantes naturales de origen natural y sintético, todos ellos empleados de documentos gráficos y material de archivo, desde la antigüedad hasta nuestros días.

Para la realización de esta Tesis Doctoral se ha contado con la colaboración del Departamento de Pintura, el Departamento de Química Analítica y el Cen-

tro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, el Archivo de la Real Chancillería de Granada, el Instituto de Ciencias de los Materiales de Sevilla (CSIC), la Facultad de Ciencias de la Universidad de Navarra, la Biblioteca Nacional de Francia (BNF) en París (Francia), el Centro de estudio de Arqueomateriales Ernest-Babelon perteneciente al IRAMAT (CNRS) en Orleans (Francia), el Centre de Recherche sur la Conservation (CRC) (MNHN,CNRS) en París (Francia) y el Museo del Louvre en París (Francia).

Objetivos

El objetivo principal de esta memoria de Tesis es contribuir al estudio de los materiales colorantes constituyentes del patrimonio cultural mediante la aplicación de técnicas separativas y espectroscópicas. Los objetivos específicos planteados para el desarrollo del trabajo son:

1. Realizar una revisión, en profundidad, de la literatura existente relacionada con el tema, ya sea relativa a este tipo de aplicación como en otras afines.
2. Seleccionar una colección de colorantes orgánicos naturales y sintéticos de interés para su caracterización.
3. Elegir las técnicas de análisis más adecuadas para el estudio de los materiales seleccionados teniendo en cuenta las ventajas y desventajas que presentan en todas las fases del trabajo.
4. Desarrollar métodos de análisis para la identificación de los colorantes seleccionados mediante las técnicas separativas y espectroscópicas elegidas optimizando las variables implicadas.
5. Desarrollar nuevos procedimientos de toma y tratamiento de muestras que permitan que la cantidad de muestra tomada sea mínima y se mantenga la integridad física del documento analizado.
6. Aplicar los métodos propuesto en muestras históricas.
7. Estudiar el proceso de envejecimiento de ciertos materiales especialmente sensibles.

Metodología

La metodología de trabajo seguida ha constado de las siguientes fases:

- a) **Revisión de fuentes bibliográficas y documentales** de publicaciones relacionadas con el tema, ya sea relativa a este tipo de aplicación como en otras afines. Además consulta de investigaciones similares que han servido de antecedentes y referentes ineludibles del trabajo.
- b) **Selección de los materiales** objetos de estudio. Clasificación del origen de los materiales y selección de los principales colorantes orgánicos naturales y sintéticos que podrán encontrarse en las colecciones empleadas durante el proceso de aplicación.
- c) **Elección de las técnicas de análisis** según las características del material y los artefactos que se han estudiado revisando las ventajas y desventajas que presentan, tanto en el trabajo de laboratorio como los efectos sobre el artefacto.
- d) **Planificación del proceso de envejecimiento acelerado** de los materiales objeto de estudio. Elaboración de probetas y selección de las condiciones climáticas de envejecimiento artificial acelerado.
- e) **Desarrollo de métodos analíticos** para la caracterización de los materiales empleados y su estado de conservación para conocer su evolución. Para ello se han empleado distintas técnicas analíticas como: Microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X para la identificación de materiales inorgánicos. Medida de color mediante colorímetros valorando, de manera independiente, tono, valor y luminosidad y la relación entre estos parámetros. Uso de cromatografía líquida de alta resolución, electroforesis capilar,

ambas acopladas a un detector de diodos en línea, espectroscopia Uv-vis, espectrometría de absorción por reflexión difusa, espectrometría de fluorescencia de rayos X, difracción de rayos X y espectroscopia micro-Raman para la identificación y caracterización de los materiales orgánicos.

- f) **Optimización de la toma y tratamiento de muestra** mediante metodología clásica, ensayos de diferentes disolventes orgánicos y mezclas hidroorgánicas para la puesta a punto de extracciones líquido-líquido y microextracciones líquido-líquido.
- g) **Aplicación de los métodos desarrollados** en muestras históricas documentales: la colección de colorantes de Verviers, una placa de filmcolor, la colección de pergaminos y un privilegio rodado del Archivo de la Real Chancillería de Granada.
- h) **Estudio y discusión de los resultados** obtenidos entre el equipo multidisciplinar de trabajo para elaborar las conclusiones finales.
- i) **Elaboración de las actividades de publicación y difusión** de los resultados logrados para la explotación y divulgación de los mismos.

Configuración y proceso de investigación

La temática de esta Tesis Doctoral se centra, principalmente, en la caracterización del material colorante (tanto pigmentos como colorantes naturales y sintéticos) empleado en patrimonio cultural (artístico y documental).

El primer trabajo parte del estudio de las alteraciones físicas y químicas que sufre el grupo de colorantes objeto de la precedente Tesis Doctoral en Bellas Artes (rojo de carmín, rojo de Rubia, amarillo de azafrán, amarillo de goma guta y azul de índigo) tras un envejecimiento artificial acelerado, para entender su evolución y conocer la posibilidad de su identificación una vez alterados. Este trabajo se realizó íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada, dentro del grupo de investigación FQM-338 Química Analítica y Ciencias de la Vida dirigido por D. José Luis Vilchez Quero, y el subgrupo Ciencia y Cultura Escrita dirigido por Dña. Teresa Espejo Arias. Ella junto con la profesora Dña. M^a Rosario Blanc García, del departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada, colaboraron en la supervisión de este trabajos como continuación de la precedente tesis doctoral durante mi etapa posdoctoral aun en Granada. Parte de estos resultados se presentaron en el VIII Congreso Nacional del Color celebrado en Madrid (España) en 2007 bajo el título “Apuntes a las teorías del uso e historia del color a través de su estudio físico-químico y su posterior restauración”. Más adelante, en 2008, un extracto de esta investigación se publicó en la revista Óptica pura y aplicada con el título “Notas sobre la identificación mediante técnicas de análisis químico del amarillo de azafrán envejecido artificialmente” [López-Montes y col, 2008].

En los mismos laboratorios y con el mismo grupo de investigación se realizó

el trabajo de identificación simultánea de colorantes y material aglutinante su-
mando la dirección de la doctora Dña. Anne-Laurence Dupont del CRC (CNRS,
MNHN) en París (Francia), perteneciente a la Sorbonne Universités. Se trata de
la continuación de la línea de investigación sobre color en documento gráfico. La
aplicación del método se realizó sobre la colección de pergaminos manuscritos del
Archivo de la Real Chancillería de Granada gracias a la colaboración de su direc-
tor D. David Torres. Los resultados se presentaron en el 36th HPLC Symposium
celebrado en 2011 en Budapest (Hungría).

La organización, selección y caracterización de la colección de colorantes sinté-
ticos provenientes de Lieja se realizó en el centro de investigación Ernest-Babelón,
en Orléans (Francia) bajo la dirección de Dña. Patricia Roger Puyo, durante una
estancia de perfeccionamiento de doctores.

Siguiendo con el programa de perfeccionamiento posdoctoral, la siguiente es-
tancia en el centro CRC-CNRS en París (Francia) permitió la elaboración del tra-
bajo de identificación de colorantes sintéticos empleados en autocromos. El trabajo
se publicó en 2013, en la revista *Talanta*, bajo el título “Identification of synthetic
dyes in early colour photographs using capillary electrophoresis and electrospray
ionisation–mass spectrometry”. El trabajo fue dirigido por Dña. Anne-Laurence
Dupont y D. Bertrand Lavédrine, director del CRC (MNHN-CNRS). Para la dis-
cusión de los resultados se contó con la ayuda de D. Bernard Desmazières del
laboratorio LAMBE-CNRS, Evry (Francia) [López-Montes y col., 2013].

Por último, dentro del programa internacional Charisma, el grupo Ciencia y
Cultura Escrita solicitó la colaboración de D. Jacques Castaing y D. Adrián Durán
de los laboratorios del C2RMF Louvre en París (Francia), para hacer un estudio
in situ comprobando la viabilidad de un prototipo portátil que combina difracción
y fluorescencia de rayos X para la identificación de materiales en documentos grá-
ficos. Los análisis se completaron por el investigador A. Durán con espectroscopía
micro-Raman. A este compendio de resultados se añadió la aplicación de los mé-
todos de identificación de colorantes desarrollados en la Tesis en BBAA mediante
CE-PDA realizados en el departamento de Química Analítica de la Universidad de
Granada, y el estudio por SEM/EDX en el Centro de Instrumentación Científica
(CIC) de la Universidad de Granada. La interpretación de los resultados se realizó
en estrecha colaboración con los investigadores Castaing, Durán y Espejo. Esta
investigación en la que se colabora con varias instituciones y se aplican diversas
técnicas analíticas que se complementan, se publicó en *J. of Archaeological Science*

en el año 2014 con el título “Analysis of a royal 15th Century illuminated parchment using a portable XRF-XRD system and micro-invasive techniques” [Durán y col., 2013].

Con la colaboración de todos los investigadores y de los responsables de los centros implicados que nos han facilitado el acceso a los documentos históricos, se ha podido llevar a cabo este estudio, cuya metodología se ha aplicado al conocimiento de obras de gran interés cultural.

Parte I

El material colorante y las técnicas de análisis

Capítulo 1

Colorantes y las técnicas de análisis

1.1. Généralités concernant la couleur

La lumière naturelle se compose d'ondes électromagnétiques qui peuvent être définies par leur longueur d'onde (λ). Les ondes électromagnétiques visibles par l'œil humain, ont des longueurs d'onde comprises entre 380 nm (violet) et 780 nm (rouge). C'est Isaac Newton qui propose pour la première fois au XVIIe siècle un cercle des couleurs chromatiques basé sur la décomposition de la lumière blanche [Newton, 1704].

Dans la décomposition du spectre électromagnétique en fonction de la longueur d'onde (Figure 1.1) les trois zones d'intérêt pour notre travail sont :

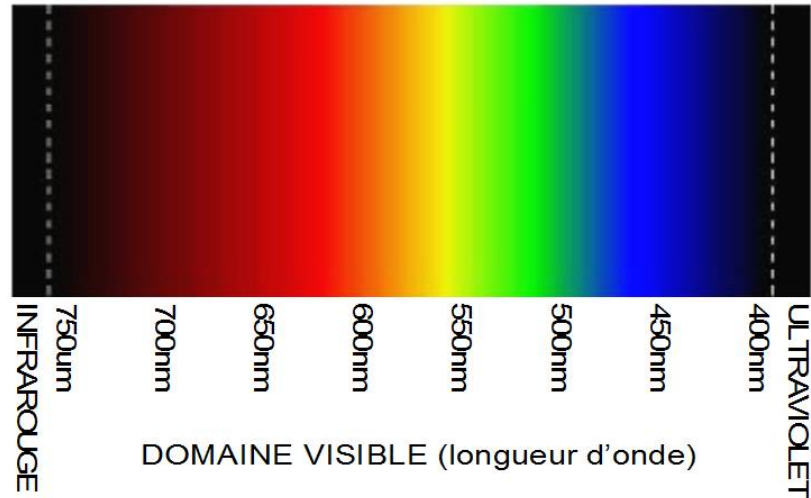


Figura 1.1: Spectre électromagnétique dans le domaine du visible.

- Ultraviolet : < 380 nm
- Visible : 380 -780 nm
- Infrarouge : > 780 nm

La couleur résulte de l'interaction du rayonnement lumineux avec la matière et sa perception exige trois éléments :

- Une source lumineuse qui l'éclaire
- La réflexion de la lumière par sa surface
- La détection de cette lumière par un récepteur

1.1.1. Interaction lumière-matière : Transmission-réfraction, absorption et réflexion spéculaire ou diffuse.

On peut produire différents phénomènes lorsqu'une lumière entre en interaction avec la matière : la lumière peut être transmise, absorbée ou réfléchie [Billmeyer et Saltzman, 1981].

La transmission – la réfraction

La transmission est la propagation de la lumière à travers de la matière transparente ou translucide. Dans ce phénomène, la direction des rayons lumineux est déviée en fonction de sa réfraction dans la matière. L'indice de réfraction (n) d'un milieu transparent est défini par le rapport entre la vitesse de propagation de la lumière dans le vide, (c) et sa vitesse dans le milieu (v_1).

$$n = c/v_1$$

L'absorption

La couleur est due à l'absorption sélective d'une partie de la radiation de la lumière incidente. Le matériau réfléchit certaines longueurs d'ondes et en absorbe d'autres selon sa couleur.

La réflexion : spéculaire ou diffuse

La réflexion de la lumière peut être spéculaire ou bien diffuse suivant la nature de la surface. La réflexion est spéculaire quand le rayon incident donne naissance à un rayon réfléchi unique à un angle identique au rayon incident. La réflexion diffuse est le cas le plus intéressant dans ce sujet. La réflexion diffuse intervient sur les interfaces irrégulières, la lumière est réfléchie dans un grand nombre de directions et l'énergie du rayon incident est redistribuée dans une multitude de rayons réfléchis (Figure 1.2).

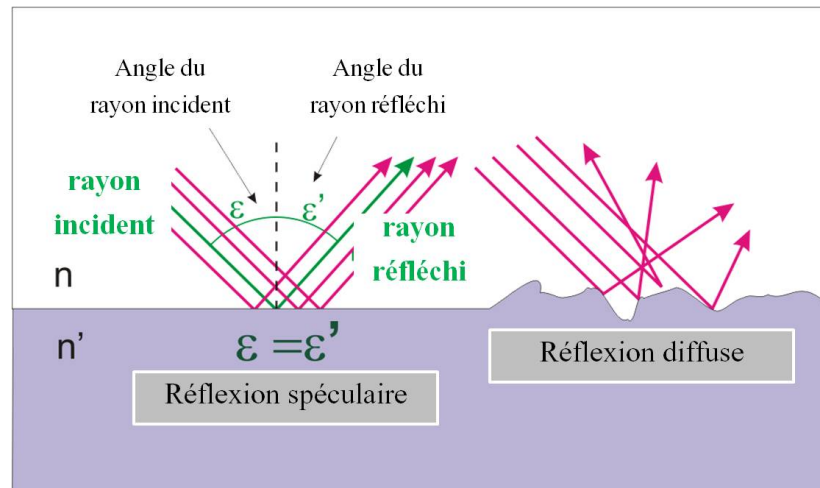


Figura 1.2: Schema de réflexion spéculaire et réflexion diffuse.

1.2. La couleur dans le patrimoine culturel: des colorants naturels aux colorants synthétiques

Dans la Préhistoire les hommes découvrirent le moyen de teindre les étoffes avec des colorants d'origine végétale ou animale. Les colorants employés sont la gaude (Suisse), l'indigo (Provence), la garance (Monhenjo-Dao dans le Valle del Indo) et le pourpre de murex (Crète) [Délamare et Guineau, 2000]. Ces colorants sont aussi utilisés par les Egyptiens, qui perfectionneront les techniques de teinture des hommes préhistoriques [Bomford, 1995].

Les Sumériens et les Egyptiens furent les premiers à savoir utiliser et même préparer des colorants pour les usages les plus divers. Ces techniques furent répandues peu à peu parmi tous les peuples de la Méditerranée. Vers la même époque, on pratiquait aux Indes la teinture de l'Indigo, et en Chine on connaissait, comme en Egypte, l'usage des oxydes métalliques et de leurs diverses combinaisons pour colorer les émaux. Pline l'ancien écrit dans L'histoire naturelle qu'il est habituel de trouver l'indigo, le kermès ou l'orcanète vers l'époque Égyptienne [Maltese, 1981].

On retrouve au Moyen Age des recettes transmises par les Egyptiens qui ont été à la base de quelques expériences de la chimie moderne [Girardin, 1877]. Nous pouvons différencier les colorants ternes pour les textiles du peuple, et les colorants intenses et brillants pour les textiles dans la classe dominante. Puis, les conditions de préparations et d'emplois des colorants se précisèrent comme l'indique le manuscrit de Théophile (XIe – XIIe siècle). En même temps, de nouveaux colorants firent leur apparition : le bois rouge de Brésil (venu des Indes au XIIe siècle) [Roger et Villela-petit 2003], le kermès (introduit dans la péninsule Ibérique par les Arabes au XIIIe siècle), la cochenille (importée en Europe par les Espagnols après la conquête du Mexique) [Meybeck, 1963].

Progressivement, les procédés d'extraction des colorants naturels et leur application à la teinture s'améliorèrent et atteignirent dès le XVIIe siècle un haut degré de perfection. En 1671, Colbert fit publier « l'Instruction générale pour la teinture des laines et manufactures de laine de toutes couleurs et pour la culture des drogues ou ingrédients qu'on y employé » [Mukerji, 2007]. Cet ouvrage donnait le détail sur les recettes de teinture et les principales plantes tinctoriales poussant en Europe.

Actuellement, contrairement aux colorants végétaux qui, eux, ont complètement disparu ou n'ont plus que des usages très restreints, quelques pigments minéraux sont encore utilisés de nos jours, mais les colorants organiques synthétiques prédominent, surtout ces dernières années, depuis que de nouveaux produits dont les propriétés sont remarquables et les applications nombreuses sont apparus [Gordon et Gregory, 1983].

La première découverte de ces colorants artificiels remonte à 1788, et est due à Hausmann qui constata la formation d'une couleur jaune due à l'acide picrique, mais ce ne fut toutefois que cinquante-neuf ans après que, grâce à Guinon Airé de Lyon, l'on sut profiter de la remarquable propriété que possédait cet acide, d'imprimer à la fourrure une belle coloration jaune très solide.

En 1818 Braconnot, puis en 1840 et 1841, Boutin et Schuck reconnurent que le suc d'aloès traité par l'acide azotique fournissait des acides nitrés colorés qu'ils utiliseront dans la teinture de la soie et de la laine.

En 1818, le Dr. Prout découvrit sous le nom de purpurate d'ammoniaque une matière colorante d'un rouge pourpre dérivant de deux produits d'oxydation de l'acide urique ; c'est ce que l'on appelle aujourd'hui la merexide, qui n'a été appliquée à la teinture qu'en 1853 par MM. Sacc et A. Schlumberger, c'est-à-dire

quarante-cinq ans après sa découverte.

Des 1834, Runge avait indiqué comme réactions caractéristiques de l'aniline : la couleur violette qu'elle donne avec le chlorure de chaux, la couleur rouge pourpre qu'elle fournit avec le chlorure d'or sous l'influence de la chaleur, ainsi qu'une autre couleur rouge que son chlorhydrate produit à la température de 100°C par le contact du bichromate de potasse, mais ces faits curieux passèrent inaperçus. Ce ne fut que dix ans plus tard que M. Hofmann, en étudiant les bases organiques contenues dans l'huile de goudron de houille, confirma les observations de Runge et y ajouta nombre de faits nouveaux ; mais il fallut encore douze ans pour que ces réactions de laboratoire trouvent une application industrielle. La gloire en est due, d'une part, à un chimiste anglais, W.H. Perkin qui, au début de l'année 1856 isola la matière violette Mauvéine, créée dans les actions oxydantes sur l'aniline et fit l'examen de ses propriétés tinctoriales [Délamare et Guineau, 2000] [Girardin, 1877]. Cette date, la plus importante de l'histoire des colorants, fut déterminante pour l'essor de la chimie organique, si l'on considère les innombrables recherches que suscita la fabrication des colorants de plus en plus variés et complexes [Gilbert, 2003]. Perkin découvra aussi l'aniline purpura, par hasard, lors d'un accident dans le laboratoire [Hunt, 1986].

Un peu plus tard en 1859, F. Verguin, chimiste de la Maison Renard & Franc, continue sur la voie de Perkin et synthétise la Fuchsine, magnifique colorant rouge résultant de l'oxydation de l'aniline par le tétrachlorure d'étain. La découverte des nouvelles matières tinctoriales produisit en tous pays une très grande sensation, les violets et les rouges d'aniline dérivant des essais de savants et praticiens.

La deuxième moitié du XIXe siècle vit la découverte des colorants de synthèse préparés à partir des dérivés du goudron de houille. Ces derniers, grâce à la vivacité de leurs nuances, à leur solidité, à leur facilité d'application pour la coloration des substances les plus diverses, supplantèrent rapidement les colorants naturels.

Tous les efforts des industriels d'alors pour améliorer la qualité des produits naturels et les procédés de leur application, furent évincés progressivement. On assista à la ruine d'industries jadis florissantes et à la disparition de la culture des plantes tinctoriales. Par exemple, les colorants rouges naturels pour textiles étaient à base de garance, de kermès ou de cochenille jusqu'au XIXe siècle. Les cultures de garance furent étendues dans le comté d'Avignon notamment quand Louis-Philippe eût fait adopter le pantalon « rouge garance » pour l'armée. En 1869, Graebe et Liebermann en Allemagne firent la synthèse de l'alizarine (principe colorant de la

garance) et Perkin en Grande-Bretagne à un jour d'intervalle. L'avènement des colorants synthétiques supplanta ces colorants naturels du fait de leur bas prix sur le marché et de leur meilleure résistance au temps en entraînant la ruine des provinces qui cultivait ce type de colorants [Cardon, 1990].

La quantité de matière premières nécessaire pour la fabrication d'un colorant naturel était environ 100 fois supérieure à celle nécessaire pour la fabrication des colorants synthétiques ; la plante *Rubia tinctoria* (garance) fournissait seulement 2 % d'alizarine ; la plante *Insatis tinctoria* 0,4 % d'indigo ; on avait besoin de 3000 cochenilles pour obtenir 1 g de carmin et pour la même quantité de jaune de safran, on avait besoin de 20 fleurs de *Crocus sativus* L.

L'éclosion des colorants synthétiques est due aux exigences de plus en plus impérieuses de la clientèle au sujet de la solidité et de la vivacité des coloris, mais aussi et surtout est liée à l'industrie issue des produits pétroliers qui fera apparaître sur le marché de nombreux matériaux nouveaux tels que: caoutchoucs synthétiques, matières plastiques, nouvelles fibres synthétiques, dont la coloration entraînait pour chaque cas particulier l'obligation de disposer d'une gamme de colorants à caractères très spéciaux et spécifiques, et qui, le plus souvent, devaient être créés spécialement pour cet usage.

Les matières premières de base des colorants organiques synthétiques servant à la fabrication des « produits intermédiaires » et par conséquent à celle des colorants, étaient naguère extraites exclusivement du goudron par pyrogénéation de la houille. Avant d'être transformées en colorants, les matières de base subissent une série de transformations chimiques pour conduire aux produits intermédiaires généralement incolores ou très peu colorés.

1.3. Classification, représentation et catalogage des matières colorants

Les matériaux colorants peuvent se classer en trois groupes : les pigments, les colorants et les laques. Pour les suivantes recherches, nous avons sélectionné les colorants d'entre eux.

Les colorants sont des matières organiques, naturelles ou synthétiques, utilisées pour apporter une couleur déterminée à un milieu ou une surface. Ils sont solubles dans le milieu d'utilisation et ont un pouvoir opacifiant faible voir nul. Ils se fixent

par une liaison chimique sur le support soit directement, soit avec un prétraitement (exemple de la teinture du textile).

1.3.1. Classification des colorants

Les principaux modes de classification des colorants naturelles ou synthétiques reposent soit sur leur constitution chimique, soit sur leur propriétés et méthode d'application aux différents substrats (le cuir, le papier ou les fibres textiles par exemple). Dans ce cas, le texte comprend la classification spécifique pour substances colorantes par constitution chimique et par propriétés et application.

1.3.1.1. Classification par constitution chimique

Les colorants peuvent être aussi classés en un certain nombre de grandes familles dont l'une se distingue par la présence d'un groupe chromophore caractéristique qui se rattache à un individu chimique de base (Figure 1.3) [Hedayatullah, 1976], [Meybeck, 1963].

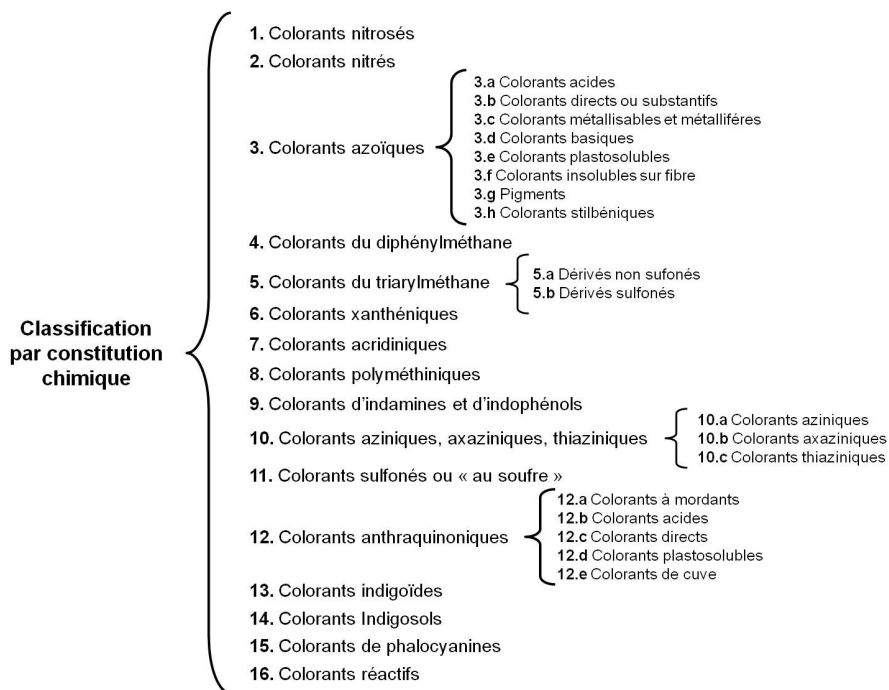


Figura 1.3: Schéma de la classification par constitution chimique

La famille de colorants la plus importante parmi tous est celle des colorants azoïques caractérisés par le groupe chromophore azoïque : $-N=N-$. Il y a une grande variété de ses représentants et une grande diversité dans ses applications. Depuis ces dernières années, de nombreuses catégories de colorants azoïques ont trouvé une faveur de plus en plus marquée auprès des industries intéressées. Ce succès peut s'expliquer par la relative facilité des recherches dans le domaine des colorants azoïques qui a permis aux chimistes de préparer de nombreux composés de toutes nuances et dont les propriétés tinctoriales et les solidités étaient parfaitement adaptées à l'usage auquel on les destinait.

Le deuxième groupe important est composé des colorants réactifs. La première entreprise qui a fabriqué les colorants réactifs est l'I.C.I. (Imperial Chemical Industries) en 1956. Ces colorants suscitèrent le même intérêt que la Mauvéine et

provoquèrent un effort considérable de la part des firmes concurrentes pour lancer des produits équivalents. En 1956, l'Institut de Chimie des Colorants de Bâle relevait 169 brevets concernant la constitution de nouveaux colorants réactifs. Il s'agissait de dérivés dont la molécule colorée pouvait avoir des constitutions chimiques extrêmement variées comme les colorants azoïques ou anthraquinoniques, mais qui possédaient une caractéristique commune au point de vue tinctorial, celle de se fixer sur la fibre par réaction chimique par création de liaisons de covalence. Les colorants ainsi fixés étaient extraordinairement solides au lavage, à l'extraction, aux solvants et même à certaines interventions chimiques.

S'il n'est pas possible de connaître avec précision les compositions des colorants réactifs lancés dans le commerce, du moins peut-on en avoir une idée à la lecture des brevets qui les protègent.

Schématiquement, un colorant réactif se compose d'une molécule colorée substituée par des groupes solubilisants et reliée à un reste porteur d'un ou de plusieurs groupes réactifs. Entre les groupements réactifs qui ont été brevetés, nous remarquons particulièrement deux types:

- le monochlorotriazine: (Procion H, Cibacrone) (Figure 1.4)

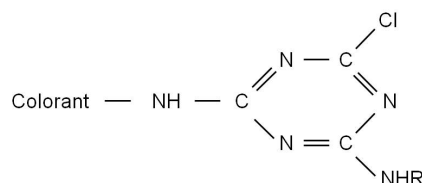


Figura 1.4: Schéma de colorant réactif avec un groupe monochlorotriazine.

- le trichloropyrimidine: (Reacton, Drimaréne) (Figure 1.5)

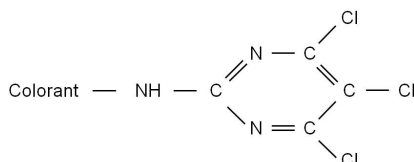


Figura 1.5: Schéma de colorant réactif avec un groupe trichloropyrimidine.

Les colorants réactifs avec un groupe réactif monofonctionnel trichloropyrimidine reçoivent le nom commercial de Drimarene X. Les colorants réactifs avec un groupe réactif difluoropyrimidine reçoivent le nom commercial de Drimarene K [Chen, 2006].

Les premiers colorants réactifs, les Procion, puis les Cibacrone, ont été appliqués à la cellulose, mais la gamme des applications s'est assez rapidement étendue aux polyamides et à la laine.

1.3.1.2. Classification par propriétés et applications

Les colorants peuvent se classer d'un point de vue de la solubilité dans trois grandes catégories : 1) les colorants solubles dans l'eau, 2) les colorants insolubles dans l'eau mais solubles dans l'alcool et 3) les colorants solubles dans les matières grasses et vernis [Hedayatullah, 1976] (Figure 1.6).

Les colorants solubles (1) sont à peu près exclusivement utilisés pour la teinture et l'impression des fibres textiles. Les colorants anioniques (1.a) ou colorants acides (1.a.1) teignent les fibres protéiniques (laine, soie...) en bain acide (d'où leur nom). Les colorants directs ou substantifs (1.a.2) teignent les fibres cellulosiques (coton, viscose...) en bain neutre et les colorants à mordants ou métallisables (1.a.3) peuvent servir à d'autres usages qu'à la teinture des fibres protéiniques ou cellulosiques. Les colorants cationiques ou basiques (1.b) contiennent un groupe

aminé qui teinte en milieu acide à une température voisine de 105° C pour obtenir un bon rendement des colorants. Ils sont utilisés pour teindre la laine en couleurs pastels. Les colorants réactifs (1.c) possèdent un groupe réactif qui a la propriété de se lier chimiquement avec la fibre à teindre. Ce qui leur confère une très bonne tenue.

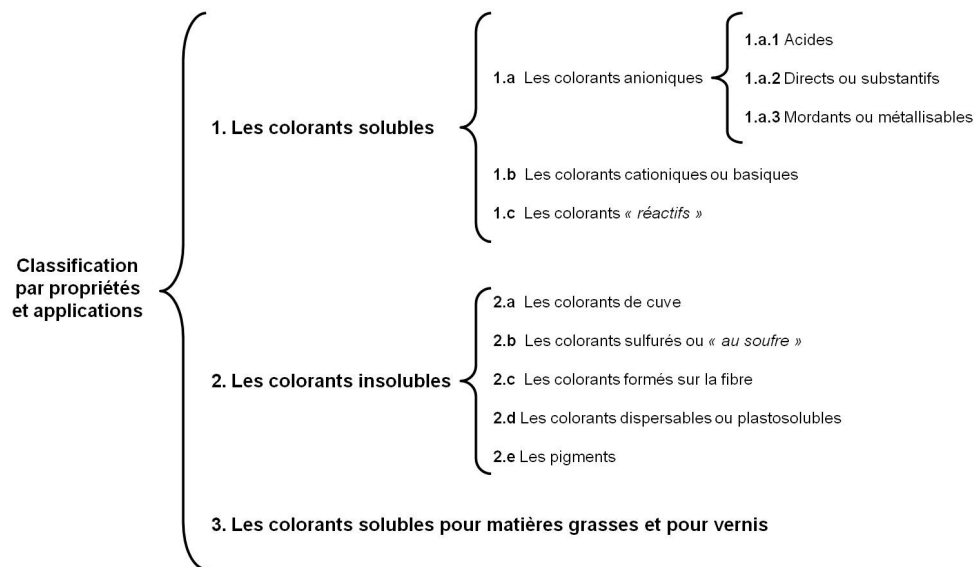


Figura 1.6: Schéma de la classification par propriétés et applications

Les colorants insolubles (2) peuvent être utilisés pour la teinture ou la coloration de supports extrêmement variés : fibres textiles diverses, matières plastiques, peinture, etc. Les colorants de cuve (2.a) donnent par réduction en milieu alcalin, un leuco dérivé, une « cuve » qui possède de l'affinité pour les fibres.

Les colorants sulfurés (2.b) sont appliqués d'une façon un peu analogue sur fibres cellulosiques, mais en pratiquant la réduction au moyen de sulfure de sodium. Les colorants formés sur la fibre (2.c) comprennent les « colorants azoïques

insolubles » et les « colorants d'oxydation ». Les colorants dispersables ou plastoslubles (2.d) servent à la teinture des fibres d'acétate de cellulose et de fibres synthétiques ou encore pour la coloration de certains vernis. Les pigments (2.e) sont utilisés dans l'industrie des peintures et pour la coloration dans la masse d'articles variés au cours de leur fabrication. Les colorants pour matières grasses et pour vernis (3) sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants et les matières grasses comme l'huile.

1.3.2. Représentation dans l'espace Munsell

Une personne, n'ayant a priori pas de connaissance en colorimétrie, définira la couleur d'une façon simple (rouge, verte, jaune, etc.) à laquelle elle associera une notion de clarté, c'est-à-dire le taux de blanc présent (clair, foncé, etc.) et une notion de saturation ou de pureté (pastel, délavée, etc.).

Par analogie et dans le but de se rapprocher de la perception de la couleur par l'œil humain, les espaces perceptuels représentent la couleur à travers trois entités : la teinte, l'intensité ou luminosité (clarté) et la saturation (Figure 1.7).

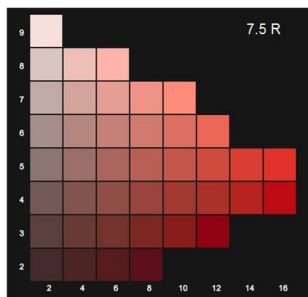


Figura 1.7: Modèle d'espace Munsell 7.5 R.

Le système de Munsell (Figure 1.8) est un modèle colorimétrique inventé par l'artiste Albert Henry Munsell en 1898 et qui a été redéfini par la Société américaine d'optique (Optical Society of America) en 1943. Dans le système de Munsell, les couleurs sont ordonnées dans un espace en trois dimensions correspondant à trois

attributs: H (“hue” = teinte) V (“value” : luminosité) C (“chroma” : saturation), qui ressemble à un arbre. Le tronc (l’axe vertical) V constitue une échelle de tons neutres de gris, le noir étant placé à la base et le blanc à la cime. Les teintes H sont situées sur un cercle chromatique entourant le tronc. L’axe horizontal C, de longueurs variables, représente le degré de saturation de chacune des teintes¹.



Figura 1.8: Munsell Color Space (Gracieuseté de Munsell Colour Services, A Division of GretagMacbeth).

a) Teinte Munsell :

La teinte est la qualité qui distingue une couleur d’une autre. C’est ce qui différencie un rouge (R) d’un jaune rouge (YR), par exemple. La figure 1.9 montre qu’un secteur peut être subdivisé en sous-sections pour une meilleure précision. Dans ce cas, un numéro précédera la valeur donnée à la section (3YR par exemple). Chaque axe est représenté par un faible nombre de valeurs.

Ainsi, la teinte est représentée par un disque divisé en dix secteurs. Ces valeurs correspondent aux teintes suivantes : rouge R, jaune-rouge YR, jaune Y, jaune-vert GY, vert G, bleu-vert BG, bleu B, bleu-pourpre PB, pourpre P et rouge-pourpre RP. Les abréviations précédentes sont données en anglais telles qu’elles ont été définies par Munsell [McLaren, 1986].

¹www.delandtsheer.net/Colorimetric Consulta 27/07/2008.

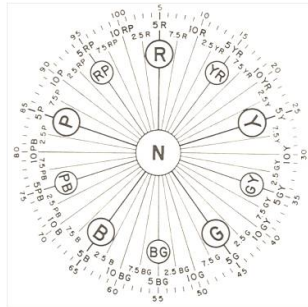


Figura 1.9: Munsell Color Space. Teinte.

b) Clarté Munsell :

La clarté réfère à la position relative d'une teinte par rapport à l'échelle verticale des gris (Figure 1.10). La clarté permet de qualifier une teinte pâle ou foncée, ou encore claire ou sombre.

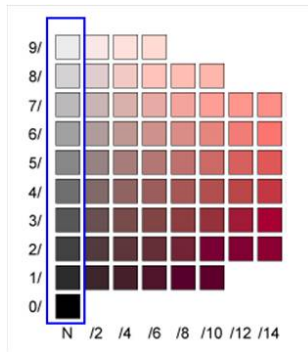


Figura 1.10: Munsell Color Space. Clarté.

c) Saturation Munsell :

La saturation est le degré d'éloignement horizontal d'une teinte à partir du gris neutre de même clarté sur l'échelle des gris. C'est ce qui permet de qualifier une couleur de « saturée » ou « d'insaturée », ou encore de « lumineuse » ou « atténuée ». En ajoutant du gris, on rend la teinte moins saturée (Figure 1.11).

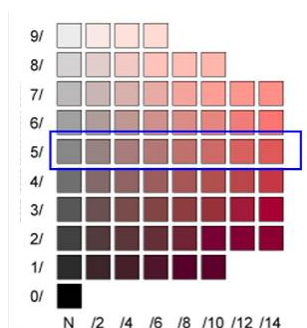


Figura 1.11: Munsell Color Space. Saturation.

1.3.3. Catalogage selon la nomenclature « Colour Index »

On a dressé de véritables « catalogues » de colorants connus de chaque famille, avec ceux dont les brevets sont tombés dans le domaine public, en mentionnant, pour chacun, leur composition chimique, leurs désignations commerciales, leurs propriétés [Meybeck, 1963].

En 1924, le “British Society of Dyers and Colourist” a publié un indice avec toutes les substances colorantes sous le titre : Colour Index. Plus tard, les 2^{ème} et 3^{ème} édition sont publiées en compagnie de « l’American Association of Textiles Chemists and Colorist ». Jusqu’à la deuxième guerre mondiale paraissait, régulièrement tenues à jour, de nouvelles éditions des Farbstofftabellen de Schultz en langue allemande, et du Colour Index de Rowe en langue anglaise. En 1956, cet ouvrage a été entièrement refondu par les spécialistes anglais et américains².

²Edité par The Society of Dyers and Colourists et par The American Association of Textile Chemists and Colorists.

Toutes les matières colorantes naturelles et synthétiques ont un nom particulier comme Tyrian pourpre, magenta or rouge de cochenille. Mais au 19e siècle, les entreprises ont développé une grande quantité de nouveaux colorants avec des noms aléatoires [McLaren, 1986]. Ces mêmes entreprises ont parfois créé des colorants identiques avec différents noms à cause de la compétition dans le secteur industriel³.

La nomenclature selon le Colour Index peut se révéler très utile lorsqu'il s'agit de trouver les équivalents d'un produit colorant, quel qu'il soit, d'une marque à l'autre et de connaître sa composition réelle si ce n'est pas un secret industriel⁴. A partir de la publication de la deuxième édition entre 1956 et 1958, le Colour Index est devenu une référence obligée pour la classification des colorants. En 1971, la troisième édition a été publiée, complètement révisée. Ainsi tous les colorants organiques et inorganiques sont classés selon trois concepts différents [Gilabert, 2003] :

- L'application tinctoriale. Chaque élément reçoit un C.I. Generic Name plus un chiffre de série. Les colorants sont mis dans l'ordre alphabétique dans trois volumes (1, 2 et 3) qui contiennent les données sur son application, les résultats obtenus sur sa solidité (se référant ici à la résistance à l'altération) et les entreprises qui les commercialisent. On distingue les types tinctoriaux suivants (Tableau 1.1) :

³www.colour-index.org Consulta 5/6/2008. Society of Dyes & Colourists, Bradford, UK.

⁴www.dotapea.com/nomenclaturepig.htm Consulta 3/6/2008.

VOLUME 1	VOLUME 2	VOLUME 3
Acide Azoïque Basique	<i>Developers</i> Direct Dispersé Fluorescent Brillant Alimentaire <i>Ingrain</i> Cuir	Mordant Naturel Bases d'oxydation Pigment Réactif Réduction Agents Dissolvant Sulfurés De cuve

Tabla 1.1: Classification par l'application tinctoriale.

- La structure chimique. Le volume 4 est formé de tous les colorants ayant une structure connue. Chaque colorant a un C.I. constitution Number (CICM) formé de 5 chiffres auxquels s'ajoutent les propriétés des matériaux, la méthode d'obtention et la bibliographie sur le colorant (Tableau 1.2).

VOLUME 4			
Nitrosés	10.000	Indamina	49.400
Nitrés	10.300	Indophénol	49.700
Monoazoïques	11.000	Azinique	50.000
Diazoïques	20.000	Axacinique	51.000
Thiazoïques	30.000	Thiazinique	52.000
Polyazoïques	35.000	Sulfonés	53.000
Azoïques insolubles	37.000	Lactone	55.000
Stilbéniques	40.000	Aminécétone	56.000
Caroténoïdes	40.800	Hydroxycétone	57.000
Diphénylméthane	41.000	Anthraquinone	58.000
Triarilméthano	42.000	Indigo	73.000
Xanthéniques	45.000	PhalocyaninesFtalocianina	74.000
Acridiniques	46.000	Natural	75.000
Quinolina	47.000	Bases d'Oxydation	76.000
Metina	48.000	Pigments Inorganiques	77.000
Thiazol	49.000		

Tabla 1.2: Classification par la structure chimique.

- Le nom commercial. Le volume 5 est divisé en 3 parties. La première partie est une liste des principaux fabricants des matériaux colorants ; la deuxième est une liste de toutes les marques connues d'un même colorant sous son C.I. Generic Name (CIGN), et la troisième partie comprend une liste alpha-

bétique de tous les noms commerciaux et sa relation avec son C.I. Generic Number, C.I. Constitution Number (CICN) et l'entreprise productrice.

Par exemple, l'Indanthren C.I. 69.800 a une application comme Food Pigment et Vat, et correspond au « Colour Index C.I. Vat blue 4 ».

Classe chimique	Classe tinctoriale								
	ACID	BAS	DIR	DISP	MOR	PIG	REAC	SOL	VAT
Nitrosés, Nitrés	31	2		48	2	5		12	
Azoïques	20	5	30	12	12	6	10	5	
Azoïques complexes	65		10				12	13	
Formazanes	70						30		
Stilbéniques			98					2	
Triarylméthanés	35	22	1	1	24	5		12	
Xanthéniques	33	16			9	2	2	38	
Acridiniques		92		4				4	
Quinoléines	30	20		40				10	
Metines		71		23		1		5	
Thiazol		5	95						
Aziniques	39	39	17			3		19	
Oxaziniques		22		2	40	9	10		
Tiaziniques		55			10			10	25
Anthraquinone	15	2		25	3	4	6	9	36
Indigo	2					17			81
Phthalocyanines	14	4	8		4	9	43	15	3

Tabla 1.3: Distribution des colorants textiles.

Il existe 22 noms commerciaux différents ayant ce même Colour Index, mais il est normalement connu sous le nom Blue Indanthren RS. Indanthren est le nom

commercial que BASF a donné aux colorants tina anthraquinoniques ayant une haute solidité. En plus, on peut voir dans le Tableau 3 que selon la distribution des colorants textiles une unique classe chimique peut contenir une grande variété de classes tinctoriales. Par exemple, les colorants azoïques peuvent être acides, basiques, directs, dispersés, mordants, pigments, réactifs ou solubles (Tableau 1.3).

1.4. Colorantes objeto de estudio

1.4.1. Colorantes naturales

Este trabajo se ha centrado, principalmente, en la caracterización e identificación de colorantes orgánicos naturales usuales en documentos gráficos, y en colorantes orgánicos sintéticos empleados para el tinte de textiles y para la coloración del almidón que forma la base de color de los primeros dispositivos a color llamados autocromos.

1.4.1.1. Colorantes naturales para escritura y decoración

La cantidad de colorantes naturales que se ha empleado a lo largo de la historia en textos y decoraciones de documentos gráficos es muy amplia, por lo que se marcó un criterio de selección de los colorantes objeto de estudio del capítulos 2, 3 y 6, basándose en los siguientes puntos:

- Colorantes de naturaleza orgánica habituales en la escritura y decoración de documentos.
- Colorantes que han sido usados de manera habitual en el marco cronológico de las colecciones documentales sobre las que se aplicarán los métodos desarrollados.
- Colorantes estudiados en profundidad durante la realización de la anterior Tesis Doctoral.
- Colorantes de relativa facilidad de obtención y de habitual comercialización.

Atendiendo a estas razones, la relación de los colorantes seleccionados en la Tesis Doctoral previa a la que está ligada esta memoria, se ha añadido el rojo de madera de Brasil. En la siguiente tabla se recogen los datos fundamentales de los colorantes

seleccionados. Estos son: rojo de Rubia, azul de índigo, amarillo de azafrán, rojo de carmín, amarillo de goma guta y rojo de madera de Brasil.

Colorante	Cromógeno	Procedencia	Origen	Agente colorante	Color	Estudiado en Tesis precedente en BBAA
Rubia	Antraquinona	<i>Rubia tinctoria</i>	Vegetal	Alizarín, purpurín	Rojo	Si
Índigo	Ínidgo	<i>Indigofera tinctoria</i>	Vegetal	Indigotín	Azul	Si
Azafrán	Carotenoide	<i>Crocus sativus L.</i>	Vegetal	Crocetín	Amarillo	Si
Carmín	Antraquinona	<i>Coccus cacti</i>	Animal	Ácido carmínico	Rojo	si
Goma guta	¿?	<i>Garcinia Hambüru</i>	Vegetal	Ácido gamboico	Amarillo	si
Madera de Brasil	Homoisoflavonoide	<i>Caesalpinia sappan L</i>	Vegetal	Brazilin, brazilein	Rojo	no

Tabla 1.4: Colorantes naturales seleccionados.

Rojo de Rubia

El rojo de rubia, o de la raíz de rubia procede de la planta *Rubia tinctorum* L., de la familia de las Rubiaceas, crece en el sur de América y en Europa. Es, quizá, uno de los colorantes más antiguos descrito por Plinio, Herodoto y Discórides valorado, especialmente, en la Edad Media. El nombre habitual que suele darse al colorante obtenido de esta raíz es rubia, madder o rojo de granza. Sus agentes colorantes son el alizarín (Figura 1.12) y el purpurín (Figure 1.13), ambos del grupo de las antraquinonas [Puchalska y col., 2003]. El alizarín, de tonalidad amarillenta, es el componente principal de esta planta, especialmente sensible al pH. La tonalidad del purpurín, tiende a ser rosácea y su extracción debe hacerse a temperatura baja para evitar que se oscurezca.

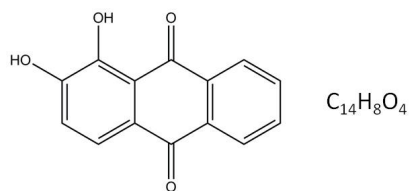


Figura 1.12: Estructura química del alizarín.

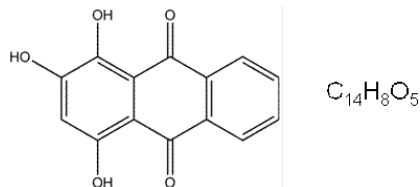


Figura 1.13: Estructura química del purpurín.

Azul de índigo

El azul de índigo, por su naturaleza, puede considerarse como pigmento o colorante, ya que es un azul de origen orgánico vegetal, insoluble en agua, pero que no necesita mordientes para teñir, depositándose en forma de partículas microscópicas entre las fibras de un soporte. Procede de la planta conocida *Indigofera tinctoria*⁵. Contiene indirrubina o rojo de índigo, indihumina o pardo de índigo, sustancias gelatinosas, materiales nitrogenados y sales minerales, silicato, calcio, potasio, magnesio, hierro, etc [Sainsbury, 1991]. El componente principal es el indigotín (Figura 1.14). El color se extrae de las hojas de esta planta. La hoja se macera en un baño alcalino a 50°C hidrolizando el glucósido natural incoloro llamado indicán que dará el color, consiguiendo una solución incolora por esta hidrólisis enzimática. Esta solución, una vez escurrida, se deja fermentar, en contacto con el aire se oxida y se vuelve insoluble produciendo el colorante azul conocido como índigo o añil [Balfour-Paul, 1998].

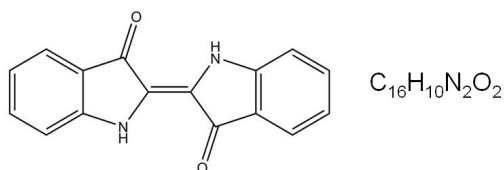


Figura 1.14: Estructura química del indigotín.

⁵Familia de las Leguminosas.

Amarillo de azafrán

El amarillo de azafrán se extrae de los estigmas de la flor del azafrán o *Crocus Sativus L*⁶. El componente que da el color al azafrán son las crocinas, una familia de inusuales carotenoides solubles en agua. Son ésteres mono y di-glicosilados de la crocetina, donde D-glucosa y D-gentobiosa se encuentran como residuos carbohidratos. El digentobiosil éster de crocetina llamado crocetín (Figura 1.15) es el componente mayoritario [Lozano y col., 1999]. El amarillo obtenido con el azafrán es muy brillante y apreciado desde épocas antiguas.

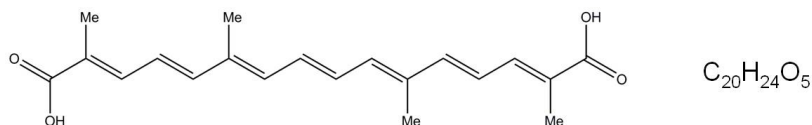


Figura 1.15: Estructura química del crocetín.

Rojo de carmín

El rojo carmín, procedente de la cochinilla (*Dactylopius coccus*)⁷ o el Kermes, es uno de los colorantes más apreciados desde la antigüedad. El componente principal de la cochinilla es el ácido carmínico, un β-C-glicopiranosil derivado de la antraquinona [Wouters y Verhecken, 1989] que se encuentra alojado en la zona del abdomen de los insectos hembra, y puede dar dos tonalidades, un púrpura o un escarlata brillante (Figura 1.16). Se extrae directamente del insecto disecado en un baño de agua caliente.

⁶Familia de las Iridáceas.

⁷La cochinilla también llamada grana de cochinilla o cochinilla del carmín es un insecto parásito de distintas plantas como pueden ser el cactus.

El ácido carmínico cambia fácilmente de coloración dependiendo del pH del medio, pasando de un amarillo anaranjado en medio ácido hasta el violeta en medio básico.

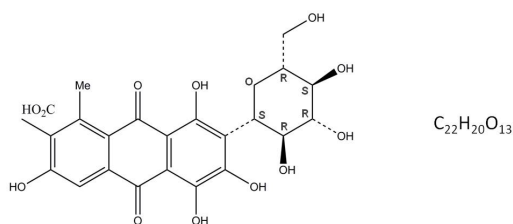


Figura 1.16: Estructura química del ácido carmínico.

Amarillo de goma guta

El amarillo de goma guta se extrae de una variedad del árbol de la *Garcinia*⁸. Su componente principal, y el que le confiere el color amarillo, es el ácido gamboico [Montagna y Pigmenyo, 1993.] (Figura 1.17). Debido a su aspecto transparente y su tonalidad amarilla clara poco cubriente, ha sido muy empleado en veladuras y corladuras aunque más tarde se sustituyó por colorantes más resistentes y menos tóxicos.

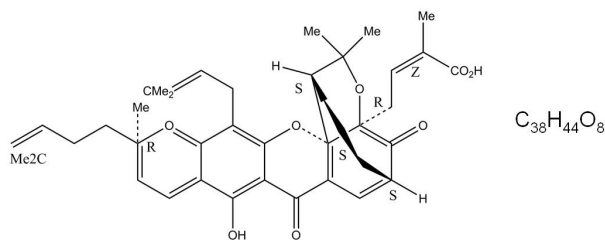


Figura 1.17: Estructura química del ácido gamboico.

⁸Familia de las Clusiaceae.

Rojo de madera de Brasil

El rojo de la madera de Brasil o Brazilwood procede del árbol *Caesalpinia sappan L.*, aunque erróneamente a todos los rojos procedentes de maderas rojas tropicales se les ha llamado en Europa Brazilwood o madera de Brasil [Manhita y col., 2013]. Los principales constituyentes de este colorante son los homoisoflavonoides brazilina y brazileina.

Es interesante destacar que el brazilín es el constituyente principal en el pigmento crudo, y que el brazileina puede ser aislado en grandes cantidades cuando el extracto orgánico se expone al aire y la luz, resultado de la oxidación del hidroxyl del brazilina al grupo carbonil [Oliveira, 2002]. Ambos compuestos (Figura 1.18 y 1.19) son tetracíclicos, con dos anillos aromáticos, una pirona y un anillo de cinco miembros.

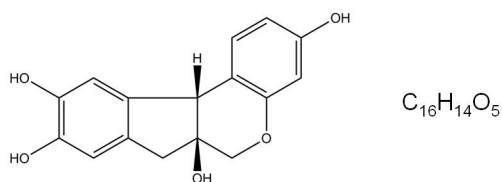


Figura 1.18: Estructura química de brazilina.

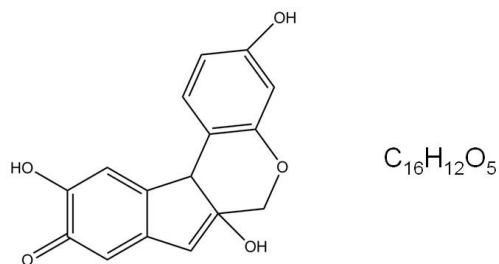


Figura 1.19: Estructura química de brazileina.

1.4.2. Colorants sintéticos

La terminologie des colorants organiques synthétiques est fort compliquée parce qu'aucune règle ne précise leur appellation [Barnett, 2007]. Jusqu'en 1963, il y avait environ 25000 marques de colorants correspondant à 5000 espèces chimiques définies. On suppose qu'actuellement ce nombre est plus élevé.

Le fait qu'un même colorant peut être fabriqué par de nombreux concurrents qui le vendent chacun sous une désignation commerciale différente est bien connu. De plus, un fabricant peut vendre un même colorant sous plusieurs marques distinctes suivant l'usage auquel il le destine : teinture d'une fibre, textile, coloration de vernis, de matières grasses, etc.

On ne peut pas désigner les colorants du nom de leur formule chimique parce que, d'une part, c'est très compliqué pour les utilisateurs et les chimistes et, d'autre part, les fabricants de colorants ne veulent pas divulguer le secret de la constitution de leurs produits .

- La désignation des premiers colorants rappelle leurs nuances ou le nom de leur inventeur :
Mauvéine / Fuchsine
Violet de Lauth / Violet de Hofmann
- Plus tard, ils vont porter des noms de colonies :
Rouge Congo / Noir Zambésie
- Parfois l'appellation du colorant met en évidence son emploi principal, ses propriétés tinctoriales ou ses principales solidités :
Ecarlate au gras
Rouge pour laine
Rouge Lumière
- Le plus souvent la marque choisie est absolument arbitraire :
Bleu Benzo

Le nom du colorant est en général suivi d'une lettre : J, R, B, G, abréviation des mots jaune, rouge, bleu et du mot allemand Gelb (jaune). Cette lettre peut être

precedée d'un chiffre : 1, 2, 3... ce qui donne une indication sur la nuance du colorant. Ainsi, un rouge 3 J est plus jaunâtre qu'un rouge 2 J ou qu'un rouge J.

En particulier, pour le colorant réactif Drimarene, fabriqué par Sandoz en 1959, le nom est suivi d'une lettre qui certifie son type de groupe réactif monofonctionnel : K ou R pour Difluorochloropyrimidine ou X ou Z pour Trichloropyrimidine.

Par exemple (Figure 1.20):

Nom : Ecarlate drimarene R 3G



Figura 1.20: Flacon d'un colorant rouge de la collection de Verviers.

Description : « Colorant réactif (... *drimarene*...) rouge (*Ecarlate*...), fabriqué par Sandoz (ou Ciba ou Novartis) (... *drimarene*...) en compagnie d'un groupe réactif monofonctionnel (... *R*...) avec une coloration finale très (... *3*...) jaunâtre (... *G*) » .

1.4.2.1. Colorantes sintéticos para autocromos

Los autocromos son los primeros artefactos fotográficos que proporcionaban una imagen en color. La base solía ser un cristal (que más tarde se sustituyó por una base plástica) sobre la que se colocaba una trama de pequeños gránulos de almidón coloreado con colorantes orgánicos sintéticos. La mayor parte de estos colorantes fueron introducidos por la industria química con fines comerciales de varios campos (no exclusivamente artísticos). Para preparar las bases que daría lugar a la imagen en color, había que preparar tres lotes de almidón coloreado en violetas, naranjas y verdes. La combinación de estos tres colores debía crear la luz blanca ya que el color final se obtenía por síntesis aditiva del color. Uno de los aspectos más complejos durante el desarrollo de estos prototipos fue conseguir el teñido exacto y duradero de la fécula aunque Louis Lumière llegó a afirmar que

la elaboración de esas soluciones tintoriales fue simple en comparación con otros problemas técnicos que se plantearon en la elaboración de las placas [Lavédrine y Gandolfo, 2009]. Los colorantes iniciales propuestos por L. Lumière se basaron en los empleados para la realización de filtros fotográficos y fueron: violeta cristal, azul de metileno, tartrazina, azul carmín, eosina y rosa de Bengala. Pero seguía siendo un misterio el grupo de colorantes usados por la empresa de los hermanos Lumière hasta que Seyewetz, químico que trabajó con los hermanos Lumière, escribió “ils sont teintés avec des colorants basiques qui doivent fournir des teintures d’un bel éclat. On peut employer notamment, pour obtenir les teintes orangées, vertes et violettes, des mélanges composés avec l’érythrosine, la tartrazine et le bleu carmin dont la solidité à la lumière est pratiquement très bonne, grâce à un vernis protecteur dont on les recouvre pour les isoler de l’émulsion sensible et du contact de l’air ». En este texto, además de enumerarse algunos de esos colorantes, se observa el interés de los fabricantes por su conservación [Seyewetz, 1939]. Más tarde se descubrió una confusión sobre el azul carmín debido a una errónea traducción, y gracias a este dato junto con más escritos de la época, en 1908 se conocía el uso de los siguientes colorantes: violeta cristalizado, tartrazina, eritrosina J., azul patentado (azul carmin) y verde solido nuevo cristalizado 3B. La evolución y renovación de la lista de colorantes siguió hasta 1929 apareciendo más información en notas manuscritas y en registros de empresas recuperados durante el cierre de muchas empresas. A causa de este trasiego y del secretismo por las patentes, la única forma de conocer los colorantes que realmente conforman una base fotográfica autocroma es realizar un análisis de los elementos. La selección del grupo de colorantes sintéticos que pudieron ser empleados en estas bases fotográficas y que son objeto del capítulo 5, se ha basado en las siguientes fuentes bibliográficas.

- Publicaciones sobre el uso de los colorantes en autocromos durante el proceso de elaboración.
- Revelaciones de Seyewetz.
- Información recopilada por los recientes trabajos de Lavédrine y Gandolfo basada en los archivos de los hermanos Lumière.

Por lo tanto, los colorantes seleccionados fueron los siguientes :

- Colorantes catiónicos:
 - Azul de metileno (Methylene blue) (MB)
 - Violeta cristal (Crystal violet) (CV)
 - Verde brillante (Brillant green) (BG)
 - Auramina O (Auramine O) (AO)
 - Crisoidina G (Chrysoidine G) (CG)
 - Violeta de etilo (Ethyl violet) (EV)
 - Rodamina B (Rhodamine B) (RHB)
 - Rodamina 6G (Rhodamine 6G) (RH6G)
 - Tioflavina T (Thioflavin T) (TT)
 - Azul Basonyl (Basonyl Blue) (BB)
 - Azul 810 Flexo (Flexo Blue 810) (FB)
 - Azul Victoria R (Victoria blue R) (VBR)
 - Auramina G (Auramine G) (AG)
 - Azul Victoria B (Victoria Blue B) (VBB).
- Colorates aniónicos:
 - Eritrosina B (Erythrosine B) (ERB)
 - Azul patente VF (Patent Blue VF) (PBVF)
 - Eosina Y (Eosin Y) (EY)
 - Eosina B (Eosin B) (EB)
 - Crisofenina (Chrysophenine) (CH)
 - Diidofluoresceina (Diiodofluorescein) (DII)
 - Rajo Bengal (Rose Bengal) (RB)
 - Azul patente V (Patent Blue V) (PBV)
 - Eritrosina B:2 (Erythrosine B:2) (ERB2),

Sus estructuras químicas se representan en las siguientes figuras (Figura 1.21 y 1.22):

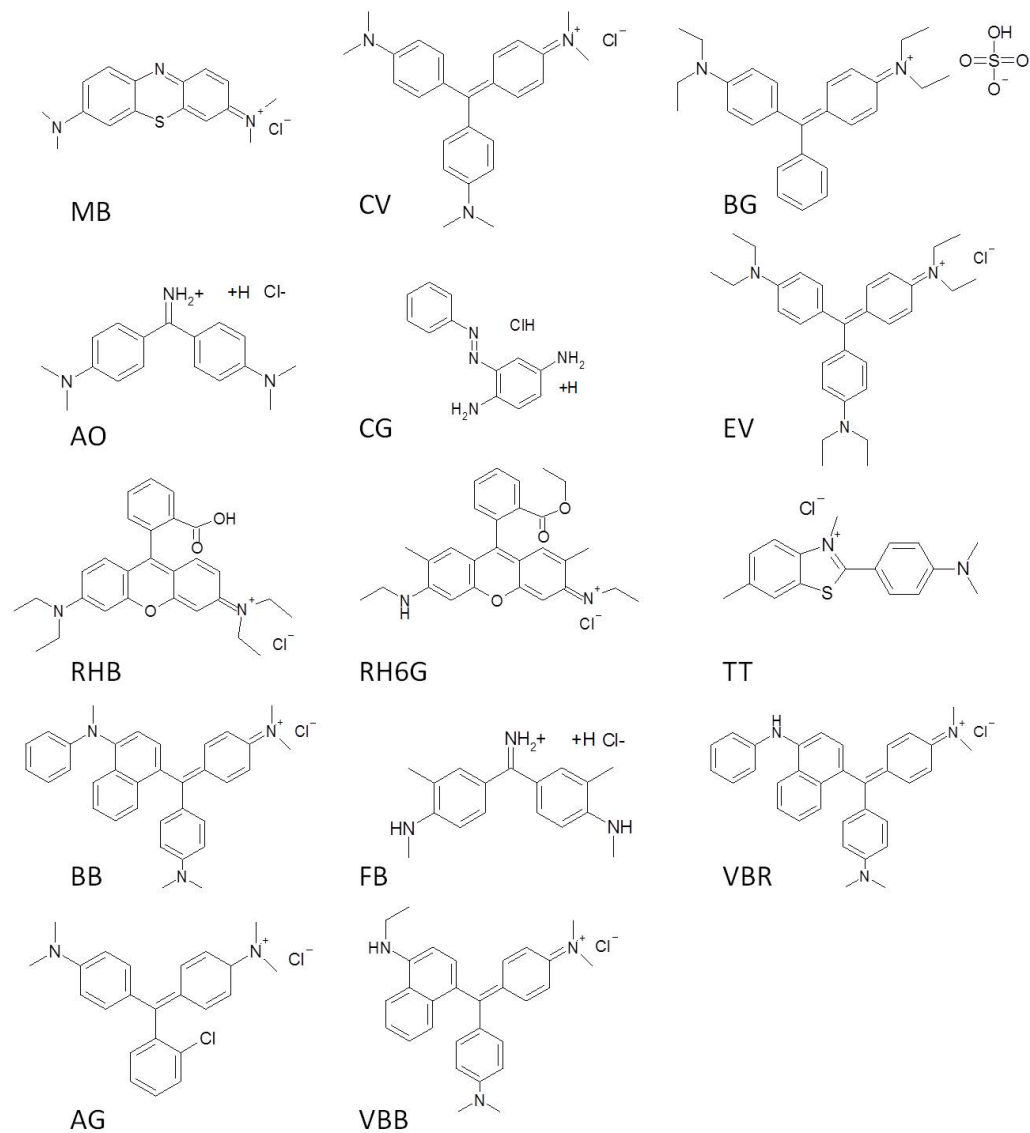


Figura 1.21: Estructura química de los colorantes catiónicos seleccionados empleados en autocromos.

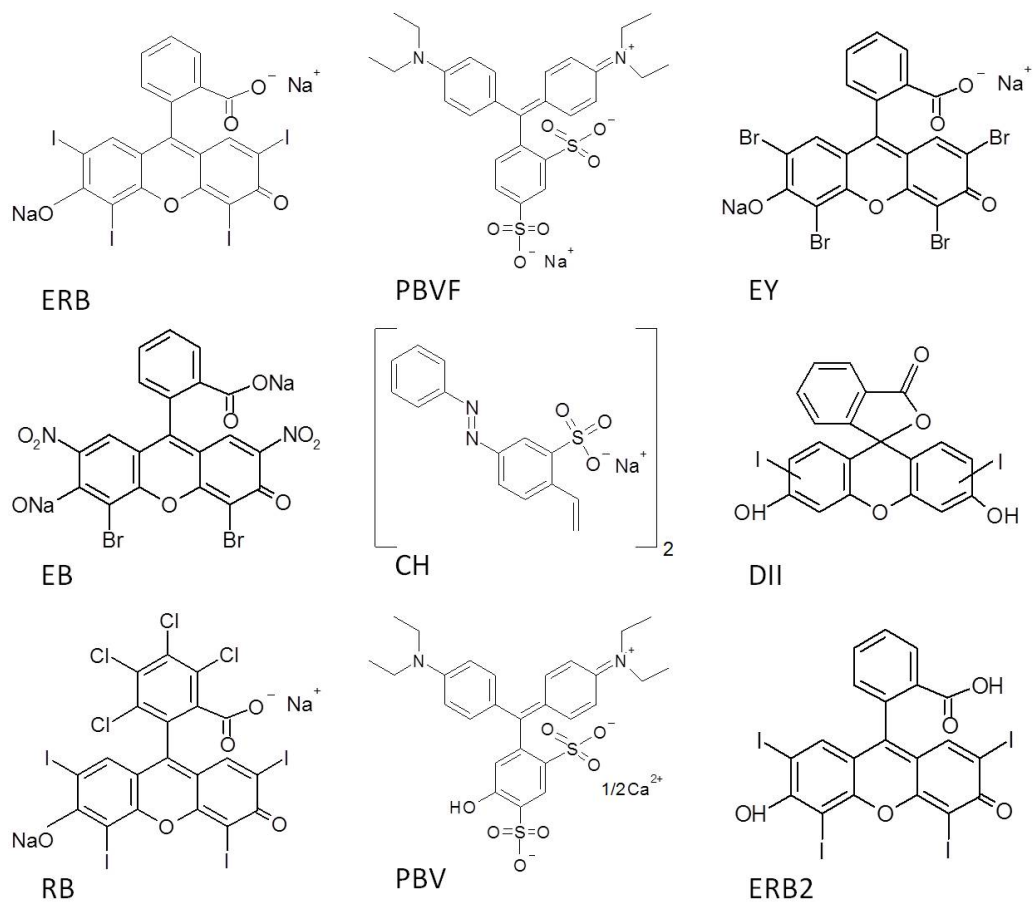


Figura 1.22: Estructura química de los colorantes aniónicos seleccionados empleados en autocromos.

1.4.2.2. Les colorants synthétiques pour textiles

La collection de colorants de Verviers comporte plusieurs milliers d'échantillons au total, ils étaient utilisés pour les études de teintures, coloris et impression. Il y a probablement plus de 7000 produits chimiques, ainsi que de nombreux échantillons textiles (tissus, fils, . . .) Tous les échantillons répertoriés ont une numérotation de la forme BbPp (produit n^o p dans le bac n^o b). Ainsi, le bac n^o 6 compte 46 produits (ou échantillons), numérotés de B6P1 à B6P46. Les 40 bacs (soit 22 % de l'ensemble) inventoriés ont été étiquetés et numérotés de 1 à 40.

Pour cette étude (chapitre 4) nous avons sélectionné un groupe de colorants qui répond aux caractéristiques suivantes :

- Couleur : rouge
- Colorant en poudre
- Entreprise d'origine : Geigy, Ciba et Sandoz

Parmi tous ces produits, certains se trouvaient dans les 32 premiers bacs qui contiennent une grande variété de couleurs : bleu, brun, gris, jaune, noir, orange, rose, vert, violet et rouge ; certains dans les bacs 33 à 40, qui contiennent exclusivement des produits rouges. Au total, 1185 produits dans les 40 bacs ou nous dénombrons 440 produits rouges.

Lors de la sélection des produits rouges pour cette étude, nous avons groupé les rouges provenant des entreprises Geigy, Ciba et Sandoz parce qu'ils correspondent aux principales marques de la collection et parce que Ciba, Geigy et Sandoz s'associeront plus tard à la Société Novartis, ce qui nous permettra d'étudier l'évolution historique de ces produits colorants.

Tous les rouges brillants sélectionnés correspondent à la zone spécifique [2.5R 4/8, 4/10, 4/12 ; 5R 4/10, 4/12, 4/14] dans le système Munsell. A la suite de cette sélection, le groupe de colorants qui fera l'objet de ce travail forme un ensemble de 45 rouges.

On a répertorié les échantillons dans un fichier où chaque ligne du fichier correspond à un échantillon. Chaque échantillon est décrit dans le tableau suivant par ordre de numération. La colonne « Référence - Data » correspond à la numération du produit. La colonne « Nom » correspond aux nom du produit chimique indiqué sur l'étiquette d'origine. La colonne « Fabricant » correspond au nom du

fabricant, qui figure sur l'étiquette d'origine du produit. La colonne « Colour Index » correspond à la référence de colour index generic name indiquée sur une autre étiquette non originale que contiennent tous les flacons et qui ont probablement été ajoutés par l'Institut Supérieur Industriel Textile (Tableau 1.5 et 1.6).

REFERENCE	NOM	FABRICANT	COLOUR INDEX
B6P12	Terasil shcarlach GR	Ciba-Geigy	Disperse rouge 169
B8P3	Ecarlate drimarene K-B	Sandoz	Reactif rouge 86
B8P4	Ecarlate drimarene K 2G	Sandoz	Reactif rouge 123
B8P9	Rouge brillant drimarene R 4 BL	Sandoz	Reactif rouge 147
B8P12	Rouge brillant drimarene RBG	Sandoz	Reactif ?
B17P23	Erio floxine 2B conc.	Geigy et Bale	Acide / floxine 2B
B18P30	Rouge xylene solide 3 BP	Sandoz	Acide rouge 3 BP
B26P1	Ecarlate brillant Cibalane RL	Ciba	Acide rouge 253
B26P16	Rouge erionyl RS 140%	Ciba-Geigy	Acide rouge 114
B26P18	Rouge erionyl RS 140%	Ciba-Geigy	Acide rouge 114
B27P24	Rouge xylene sol P	Sandoz	Acide rouge 118
B34P4	Drimarene reactif rouge 28	Sandoz	Réactif rouge 28
B34P5	Rouge drimarene F 2 GL	Sandoz	Réactif rouge 99
B35P9	Ecarlate drimarene R 3G	Sandoz	Réactif rouge 118
B35P10	Ecarlate drimarene R 3G	Sandoz	Réactif rouge 118
B35P11	Rouge brillant drimarene K BL	Sandoz	Réactif rouge 124
B35P12	Rouge brillant drimarene K 4 BL	Sandoz	Réactif rouge 147
B35P13	Rouge drimarene R 4 BL et K 4 BL	Sandoz	Réactif rouge 147
B35P15	Rouge brillant drimarene R 2 GL	Sandoz	Réactif rouge 119
B35P26	Rouge nylosane E BL	Sandoz	Acide rouge 57
B35P27	Rouge nylosane E BL	Sandoz	Acide rouge 57
B35P28	Rouge nylosane F RS 140%	Sandoz	Acide rouge 114
B39P22	Rouge nylosane F RS 140%	Sandoz	Acide rouge 114

Tabla 1.5: Information basique sur les colorants textiles sélectionnés I.

REFERENCE	NOM	FABRICANT	COLOUR INDEX
B39P27	Rouge nylosane E-BL	Sandoz	Acide rouge 57
B39P31	Rouge tectilon 2B KWL	Ciba-Geigy	Acide rouge 361
B39P32	Lanasol red G	Ciba-Geigy	Réactif rouge 83
B40P7	Ecarlate leonyl R	Ciba	Acide rouge 85
B40P8	Rouge brillant cibacrone 2G-P	Ciba	Réactif rouge 15
B40P9	Rouge brillant cibacron B-D	Ciba	Réactif rouge 24
B40P10	Rouge tectilon 3B	Ciba	Acide rouge 57
B40P11	Ecarlate lanasol 2R	Ciba	Réactif rouge 78
B40P12	Rouge lanasol G	Ciba	Réactif rouge 83
B40P17	Rouge brillant cibacrone 2B-E	Ciba	Réactif rouge 42
B40P18	Ecarlate cibacrone 2G-E	Ciba	Réactif rouge 43
B40P20	Ecarlate direct BS	Ciba	Direct rouge 37
B40P21	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P22	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P23	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P24	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P25	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P26	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P27	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P28	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P29	Ecarlate direct 3 BS	Ciba	Direct rouge 39
B40P42	Rouge aquamine B SL	Sandoz	Acide rouge 57

Tabla 1.6: Information basique sur les colorants textiles sélectionnés II.

1.5. Técnicas analíticas utilizadas para el desarrollo de metodología analítica

La determinación por medio de análisis químicos de la naturaleza de los materiales colorantes es una tarea compleja debido a la cantidad y composición de los pigmentos y colorantes. El porcentaje de colorante o pigmento presente en una capa pictórica de escritura o decoración es muy baja. Las cantidades disponibles para su análisis son realmente pequeñas. La composición de los colorantes naturales difiere según sea su lugar de origen, los procedimientos de extracción empleados y el modo de aplicación. Además sus propiedades físico-químicas pueden alterarse fácilmente con el paso del tiempo, por el mal estado de conservación

o por intervenciones de restauración.

En el año 2001, M. Clarke [Clarke, 2001] publicó una revisión de la evolución de las técnicas empleadas para la identificación de pigmentos y colorantes en manuscritos medievales europeos. El primero y más sencillo de los exámenes que se realizaba era una inspección visual comparada con muestras conocidas. En algunas ocasiones se llegaba a recurrir, incluso, a sencillos exámenes químicos “a la gota”. El estudio era tan rudimentario que en la mayoría de los casos se caía en interpretaciones erróneas. En 1924, Laurie comenzó a realizar los primeros exámenes de pigmentos *in situ* con microscopio, y unos años más tarde, en 1949, analizó unas pequeñas muestras procedentes de manuscritos con análisis microquímicos. Otras de las primeras técnicas analíticas habituales fue el análisis por espectrometría visible, aunque presentaba un gran problema: un mismo espectro visible podía corresponder a pigmentos o colorantes con composición química distinta e incluso, el paso del tiempo, entre otras alteraciones, podían modificar el espectro visible del colorante o pigmento. En 1968 Flieder [Flieder, 1968] dio un gran paso en este campo al usar la cromatografía en capa fina (TLC) para identificar aglutinantes, espectroscopia de emisión atómica para identificar sustancias metálicas y espectrometría infrarroja (IR) para colorantes orgánicos, aunque este último presentaba grandes problemas por las impurezas, los aglutinantes y los diferentes soportes.

Las técnicas empleadas para el estudio analítico de pigmentos y colorantes en documentos gráficos se han visto incrementadas recientemente. Guineau y col. [Guineau y col., 1998] examinaron los pigmentos en un manuscrito francés del siglo XV usando UV-vis con reflexión. Wallert [Wallert, 1986] describió el uso de UV-vis en disolución con difracción de RX (XRD) y espectrometría infrarroja para la identificación de rojos orgánicos en tres manuscritos italianos del siglo XV. Burandt [Burandt, 1994] hizo una discusión del uso de la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para identificar tintas en dibujos. Clark y Gibas [Clark y Gibas, 1998] también examinaron pigmentos en un manuscrito sirio-bizantino del siglo XIII usando espectrometría Raman. La espectrometría de fluorescencia y la espectrometría de fluorescencia tridimensional han sido usadas para los análisis de amarillos y púrpuras orgánicos por Quandt y Wallet [Quandt, 1998]. La cromatografía en capa fina (TLC) ha sido a menudo empleada para la separación de componentes químicos de colorantes naturales, pero la detección, identificación y análisis cuantitativo realizados son limitados. Estos límites se han ido reduciendo significativamente aplicando cromatografía líquida de alta resolu-

ción (HPLC) con detección UV-vis. Vest y Wouters [Vest y wouters, 1999] usaron estas técnicas para identificar lacas, indigos, madder y taninos en 54 encuadernaciones de manuscritos y libros impresos datados en época medieval hasta el final del siglo XVIII. Algunos autores citan el uso de aditivos para mejorar la fluorescencia de los componentes e incrementar la sensibilidad en HPLC. Recientemente se han realizado estudios para comparar la mejora entre el análisis de colorantes por HPLC-PDA y UHPLC-PDA [Serrano y col., 2013]. La electroforesis capilar acoplada a distintos detectores (PDA) o ESI-MS se empleó, desde hace algo más de una década, para la identificación de antraquinonas, agentes colorantes presentes en la composición de las cochinillas, las lacas rojas y el madder [Puchalska y col., 2003].

F. Déroche [Déroche, 2000], en su manual de codicología sobre manuscritos de escritura árabe, recoge la recopilación de los resultados obtenidos en el análisis de las tintas de una colección de coranes custodiados por la Biblioteca Nacional de Francia. Las técnicas analíticas empleadas en ese caso fueron la espectrometría de fluorescencia de rayos X y la espectrometría de absorción en reflexión difusa. Otro trabajo de reciente publicación y en relación directa con la identificación de los materiales colorantes sobre manuscritos de origen andalusí es el artículo sobre el análisis de las tintas de la colección de manuscritos árabes del Archivo de la Abadía del Sacromonte de Granada donde se aplicó HPLC-PDA, ED-PDA y SEM-EDX para su identificación [Espejo y col., 2008]. Actualmente se están adaptando técnicas de análisis no destructivas para la identificación de materiales artísticos con gran éxito y efectividad, apoyándose en la mayoría de los casos, en la combinación de varias técnicas o el uso puntual de técnicas microdestructivas para la correcta interpretación de los datos. Las técnicas más comunes son la fluorescencia de rayos X (FRX) y la espectroscopía Raman para la identificación de pigmentos. Ricciardi y Delaney [Ricciardi y Delaney, 2011] combinaron imágenes obtenidas por espectroscopía de reflectancia y luminiscente junto con espectroscopía de reflectancia de fibra óptica (FORS) y fluorescencia de rayos X (XRF) para identificar el mapa de pigmentos usados en un manuscrito iluminado de la colección Rosenwald (Galería Nacional de Arte, Washington DC). Similar combinación con FORS, XRF y espectroscopía Raman fue empleada por Aceto y col. [Aceto y col., 2014] en el año 2014 para la caracterización de colorantes en manuscritos iluminados. Gulmini y col. [Gulmini y col., 201e] señalaron la efectividad de estas técnicas junto con Vis-FORS para obtener un estudio preliminar de los coloranes

empleados, limitados por la concentración de estos en las muestras. En esta Tesis Doctoral, las técnicas ópticas y separativas no destructivas y microdestructivas que se han empleado para el análisis de los materiales han sido:

- Técnicas ópticas:
 - Colorimetría
 - Espectroscopia Uv-vis
 - Espectrometría de absorción por reflexión difusa
 - Espectrometría de fluorescencia de rayos X
 - Microscopía electrónica de barrido con microanálisis por difracción de rayos X (SEM-EDX)
 - Difracción de rayos X junto con espectrometría de fluorescencia de rayos X portátil (XRF-XRD)
 - Espectroscopia micro-Raman
- Técnicas separativas
 - Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de diodos en línea (HPLC-PDA)
 - Electroforesis capilar acopladas a un detector de diodos en línea (CE-PDA)
 - Electroforesis capilar acoplada a un detector de masas con ionización por electronebulizador (CE/ESI-MS)

1.5.1. Técnicas ópticas

1.5.1.1. Colorimetría

Desde el año 1931, la CIE (Comisión Internationale de l'Éclairage) estableció que los datos de un color podían ser perfectamente representados por tres coeficientes solamente, datos que permitirían caracterizar universalmente un color.

A partir de entonces, se puede encontrar una gran variedad de sistemas colorimétricos como son el espacio RGB; el espacio de color CIE XYZ, que fue definido con el fin de corregir ciertos defectos del espacio RGB gracias a los trabajos de Judd; el espacio CIE $L^*u^*v^*$, definido como una modificación menor realizada

por Eastwood del espacio $U^*V^*W^*$ y el espacio CIE $L^*a^*b^*$ o el espacio $L^*C^*h^*$, obtenidos a partir del espacio $L^*a^*b^*$ o $L^*u^*v^*$ entre otros .

Gracias al sistema colorimétrico CIE 1931, se puede definir el color de un objeto por tres coordenadas X, Y y Z, llamadas componentes tricromáticos, basadas en un iluminante y un observador estándar CIE, que permite obtener los valores numéricos precisos de los tres factores de la percepción visual, de una manera totalmente objetiva e independiente “de la cualidad” del observador humano. Este sistema X, Y, Z, es la base científica de la colorimetría moderna. Más tarde, en 1976, se creó el espacio CIELAB y gracias a sus valores $L^*a^*b^*$ o $L^*C^*h^*$ se pasó a un nuevo espacio mucho más simple de localización pero igualmente uniforme. El sistema CIELAB es actualmente el más utilizado en colorimetría [Chrisment, 2000]. Para el estudio de colorantes textiles, se ha empleado el espacio $L^*a^*b^*$ descrito a continuación. Estos sistemas diferentes de coordenadas cromáticas son empleados para identificar y apreciar un color y sus tintes, y para apreciar la proximidad entre dos colores. Permite, por ejemplo, saber si dos colorantes de composición diferente son percibidos como un solo color. Los parámetros a determinar para realizar las medidas colorimétricas son:

El iluminante estándar

La CIE ha establecido las propiedades espectrales de varios iluminantes estándar (A, C y D65 son los más comunes) correspondientes a tres “iluminaciones” bien particulares: iluminante A representa la luz de una lámpara de filamentos de tungsteno, iluminante C corresponde a la luz media de día y D65 corresponde a la luz media de día incluyendo los datos UV. Otros iluminantes estándar pueden ser E (equienergético) o F (para estudiar lámparas fluorescentes).

El observador estándar

Igualmente están establecidas las características para un observador estándar representativo de la media de la población. Se creó, inicialmente, en observador « 2° » que más tarde se sustituyó por observador « 10° » con el fin de obtener un sistema más representativo de un observador real. Emplear un observador 2° ó 10° indica el ángulo sobre el cual el color es visto por el observador en relación a la normalidad.

El espacio CIE $L^*a^*b^*$

En el espacio $L^*a^*b^*$, L^* representa la claridad (luminosidad de negro a blanco), y los componentes a^* y b^* representan, respectivamente, la oposición de los colores verde-rojo y la oposición de los colores azul-amarillo (Figura 1.23).

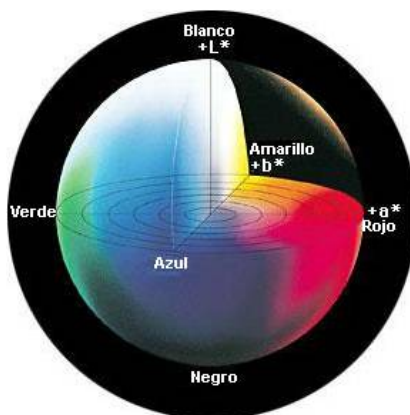


Figura 1.23: Representación gráfica del espacio $L^*a^*b^*$.

1.5.1.2. Espectrometría Uv-vis

La espectrometría Uv-vis es un método de análisis óptico que ofrece información sobre la absorbancia de las sustancias en las longitudes de onda del UV y visible. Los espectros de absorción pueden obtenerse por la radiación ultravioleta, (UV), visible (vis) e infrarroja (IR) [Cela, Lorenzo y Casas, 2002].

El objetivo de la espectroscopía UV-vis es medir la longitud de onda a la cual una sustancia absorbe la máxima radiación además de medir la intensidad de dicha radiación absorbida. El tono percibido es complementario del color de la radiación absorbida, es decir, si un objeto nos parece de color rojo es porque el ojo sólo percibe la luz arrojada reflejada por el objeto, que absorbe todas las longitudes de ondas excepto del rojo. Cuando se altera el agente colorante, la banda de absorción puede desplazarse hacia el violeta o el rojo. Cuando la absorción se desplaza a

mayores longitudes de onda se dice que se ha producido un efecto batocrómico, mientras que si disminuye la longitud de onda de máxima absorción se produce un efecto denominado hipsocrómico. Habrá que tener además en cuenta, que cuanto mayor sea el ancho y alto de banda mayor será la intensidad del color.

El equipo

Un espectrofotómetro permite medir la absorbancia de una disolución homogénea sobre una región de datos espectrales o a una longitud de onda específica.

El espectrofotómetro comprende (Figura 1.24):

- Una fuente de radiación de intensidad constante con diferentes fuentes de iluminación: luz blanca (luz policromática) de tipo tungsteno y luz Uv con una lámpara de deuterio.

- Un monocromador que separa la banda de longitud de onda deseada del resto del espectro y la dispersa al compartimento de la muestra.

- Un compartimento para la muestra: una cubeta transparente de cuarzo donde se coloca la disolución a estudiar.

- Una célula fotoeléctrica que restituye una corriente proporcional al número de fotones recibidos y un detector electrónico de tipo fotodiodo. Su respuesta es proporcional a la corriente eléctrica y permite una medida relativa de la intensidad luminosa.

Esquema

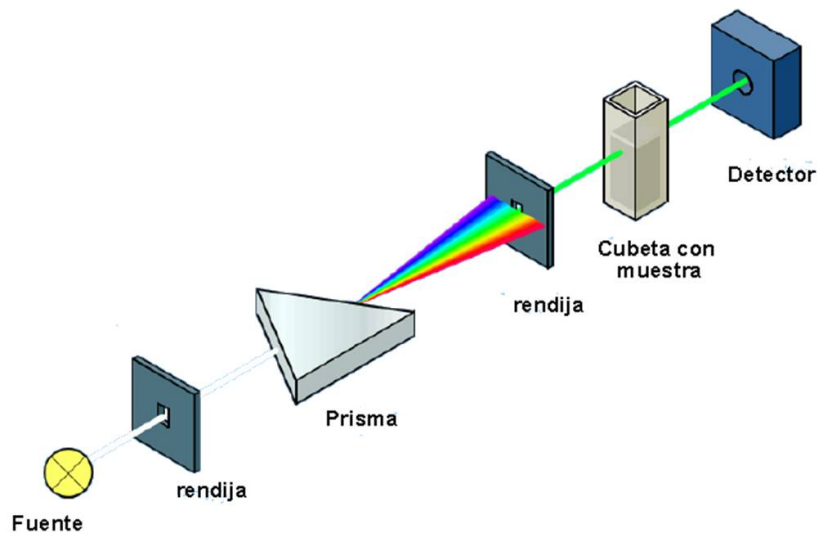


Figura 1.24: Esquema de un espectrofotómetro Uv-vis.

El equipo de espectrofotometría empleado permite obtener un espectro de absorción continua entre 190 y 1100 nm con un intervalo de 2 nm, aunque las medidas obtenidas en la región espectral del infrarrojo cercano (NIR) tienen un error elevado. Las medidas se obtienen por transmisión, son rápidas y el equipo es de uso sencillo utilizado, principalmente, para conocer los datos cualitativos y cuantitativos de una disolución coloreada.

El espectro visible y UV-vis

El espectro es la representación gráfica de la absorción de una muestra en función de su longitud de onda (Figura 1.25). Los ejes de coordenadas del espectro visible son: Longitud de onda: nm (eje X); % de absorción (eje Y).

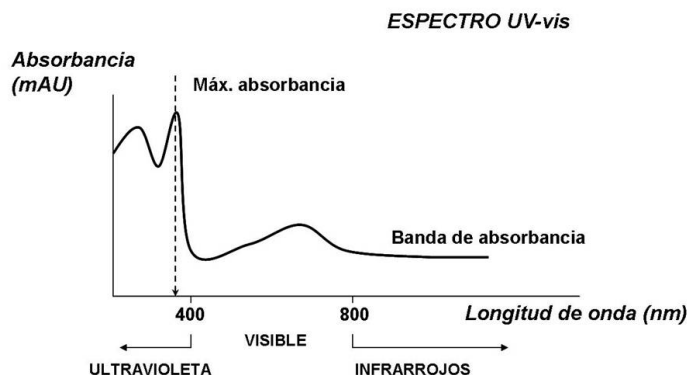


Figura 1.25: Modelo de espectro Uv-vis-IR.

Según la ley de Beer-Lambert, la absorbancia de una disolución es proporcional a la concentración de la sustancia en disolución, a condición de desplazarse a la longitud de onda a la cual la sustancia absorbe los rayos luminosos. Es por lo que la longitud de onda está reglada en función de la sustancia por la cual se conoce la concentración relativa [Skoog y West, 1989].

Las sustancias colorantes tienen una banda de absorción característica, aunque una misma banda de absorción puede corresponder a colorantes con el mismo tono, claridad y saturación aunque de orígenes diferentes. El espectro visible o UV-vis de una sustancia colorante no ofrece información sobre el origen del colorante, pero el espectro será una característica fundamental en el estudio para su identificación [Skoog, West, Holler y Crouch, 2005].

Es interesante destacar el hecho de que un compuesto coloreado no comporta necesariamente que sus máximos de absorción estén situados sobre la zona visible. Existe, en efecto, numerosas sustancias donde el máximo de absorción se encuentra en la zona ultravioleta, aunque también presenten bandas de absorción en la región visible del espectro [Hedayatullah, 1976].

Por lo tanto, el estudio por espectrometría UV-vis de todos los colorantes es un complemento a los datos obtenidos mediante espectrometría de absorción por reflexión difusa en la región visible.

1.5.1.3. Espectrometría de absorción por reflexión difusa

Las espectrometría de absorción por reflexión difusa consiste en la medida de la diferencia de intensidad de un haz de luz blanca antes y después de que interaccione sobre la superficie del color que se quiere analizar, midiéndose la luz que se refleja de manera difusa [Skoog y West, 1989]. La radiación remitida puede estar formada por radiación de reflexión especular (el ángulo de reflexión es igual al ángulo de la frecuencia) o la radiación de reflexión difusa (en todos los demás ángulos) como es este caso.

El equipo

Se ha trabajado con un equipo de espectrometría de absorción portable Ocean Optics. El equipo básico de espectrofotometría está compuesto por (Figura 1.26):

- Una fuente de luz que puede ser monocroma o no.

- Las sondas ópticas; La primera ilumina la superficie a analizar (entorno a 1mm^2). La segunda sonda, anular, recibe la luz reflejada por la muestra.

- Un detector.

El espectrómetro Ocean Optics se compone de una ranura fija que dispersa la luz. El sistema de detección está compuesto por un detector ccd⁹ (2048).

El esquema del dispositivo básico es el siguiente:

⁹Dispositivo de carga acoplado, en inglés charge-coupled device.

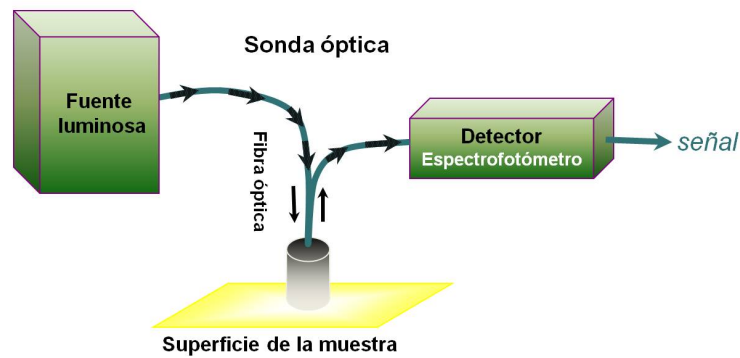


Figura 1.26: Esquema básico de un equipo de absorción por reflexión difusa.

El espectro de absorción por reflexión difusa y su derivada

El análisis de un espectro visible y su primera derivada permite conocer los puntos principales, mínimos y máximos, de la curva de absorción del color en esa zona del espectro (Figura 1.27).

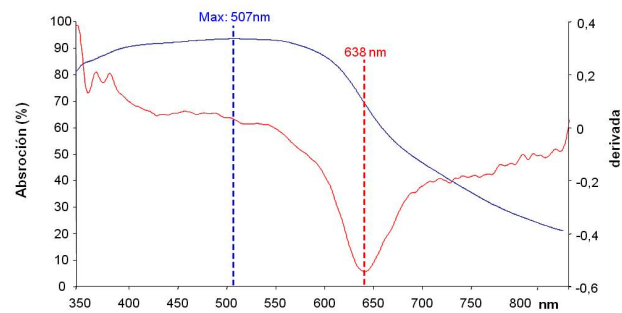


Figura 1.27: Ejemplo de representación gráfica de un espectro de absorción por reflexión difusa y su primera derivada.

A pesar de la importante información que ofrece el sistema Ocean Optics, las gráficas obtenidas no caracterizan completamente un colorante. Para completar esta información se hizo necesario el uso de la espectrometría UV-vis, que aporta información relevante también de la zona ultravioleta del espectro. Los datos obtenidos por el sistema Ocean Optics y por espectrometría UV-vis en la zona visible del espectro son ligeramente diferentes debido a que las medidas obtenidas por el último sistema se realizan de una muestra en disolución. En esta ocasión se han empleados los datos de espectrometría de absorción por reflexión difusa para el estudio de la zona visible, porque estos han sido obtenidos con una mayor resolución debido a las características de los sistemas de medida, y los datos de la espectrometría UV-vis para la exploración de la zona ultravioleta.

1.5.1.4. Espectrometría de fluorescencia de rayos X

La espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF) es una técnica espectroscópica de análisis químico elemental, no destructivo, que permite un análisis de la superficie (en torno a algunos micrómetros de profundidad) utilizando la propiedad física de la materia denominada fluorescencia de rayos X [Skoog, West, Heller y Crouch, 2005].

Emplea la emisión secundaria (o fluorescente de radiación X) que se genera al excitar una muestra con una fuente de radiación X. Esta radiación X incidente (o primaria) expulsa electrones de las capas interiores del átomo (Figura 1.28). Cuando un fotón X encuentra un átomo, hay probabilidad de desplazar un electrón del núcleo por el efecto fotoeléctrico. A partir de aquí se crea un movimiento de electrones; los procedentes de capas más externas ocupan los lugares que han quedado vacantes, y el exceso energético resultante de esta transición se disipa en forma de radiación X fluorescente o secundaria, con una longitud de onda característica que depende del gradiente energético entre los orbitales electrónicos implicados y la intensidad directamente relacionada con la concentración del elemento de la muestra. Los electrones pasan de un nivel dado fundamental a un nivel de excitación, aunque este paso es inestable.

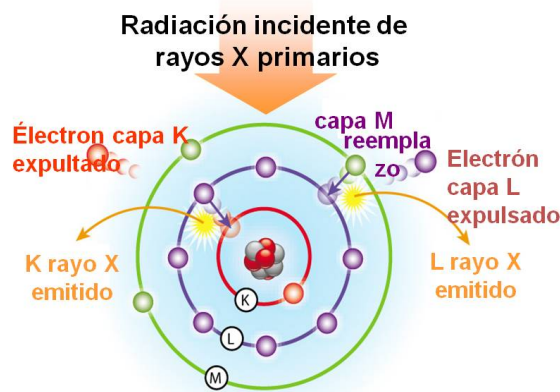


Figura 1.28: Esquema de la acción de la radiación incidente de los rayos X primarios.

Los electrones de la corteza electrónica de los átomos se sitúan en los niveles de energía correspondientes a las capas K, L, M, etc, subdivididas en subcapas. Cuando un electrón, bajo el efecto de un aporte de energía (rayos X), pierde su nivel de energía inicial (E_x), se crea una laguna electrónica. Esta se puede completar por un electrón proveniente de un nivel electrónico superior (E_y). La desexcitación se acompaña de la emisión de una radiación electromagnética de energía igual a la diferencia $E_y - E_x$. Esta emisión se traduce por un conjunto de rayos de fluorescencia característicos del elemento.

Esta fluorescencia de rayos X que se analiza es un efecto característico de los elementos de la materia, en la que la energía de rayos X corresponde exactamente a la diferencia entre los dos niveles de energía.

El equipo

El equipo consta de un canal de fluorescencia de rayos X de dispersión de energía, compuesto esencialmente por (Figura 1.29):

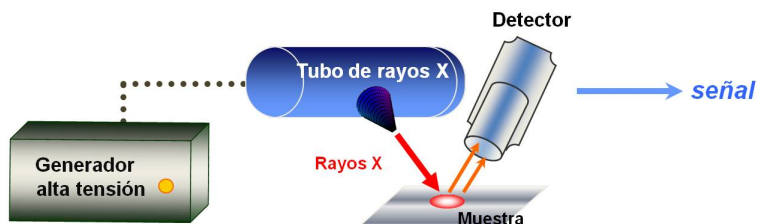


Figura 1.29: Esquema descriptivo de la fuente de espectrometría de fluorescencia de rayos X.

- Una fuente de excitación: Un tubo de rayos X equipado con un filamento de tungsteno calentado por una corriente (cátodo) y un anticátodo de molibdeno.
- Un generador de alta tensión para alimentar la fuente de excitación.
- Un detector y analizador: la señal es recibida por el analizador antes de aparecer sobre el ordenador bajo la forma de un espectro de rayos X. Un sistema de visión con una cámara y un láser permiten seleccionar la zona de análisis (alrededor de 1mm^2).

Esquema

El posicionamiento de la muestra en relación al detector se efectúa por ajuste manual de un puntero láser ajustado con la ayuda de una cámara. Aunque el equipo no permite detectar los elementos ligeros de número atómico inferior a 13, se ha empleado para verificar si otros elementos de número atómico superior, como los metales, pudieran haber sido empleados como base o aditivos de los colorantes, además de que muchos colorantes poseen núcleo o átomos metálicos.

El espectro de rayos X

Los espectros de rayos X emitidos por la materia derivan de su exposición a los rayos X resultantes del tubo y de las características de la composición de la muestra. Analizado este espectro se puede deducir la composición elemental de la muestra.

El ruido de fondo de la señal proveniente se debe esencialmente a dos fenómenos:

- La difusión Rayleigh de los rayos del tubo por la muestra: la muestra se comporta como una salida especular que reenvía la señal del tubo sobre el detector sin modificar la energía.
- El efecto Compton: cambio de longitud de onda de la radiación electromagnética de alta energía al ser difundida por los electrones.

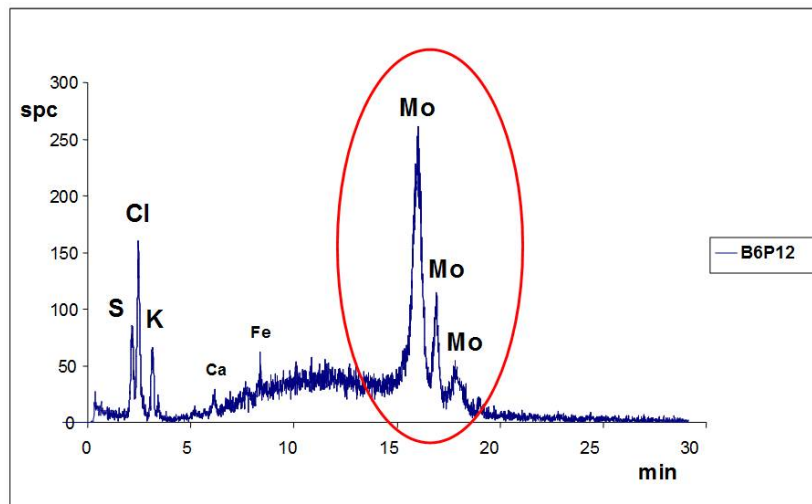


Figura 1.30: Espectro de fluorescencia de rayos X.

En consecuencia se observa la señal de molibdeno (tubo de rayos X) como ruido de fondo en todos los espectros (Figura 1.30).

La espectrometría de fluorescencia de rayos X no permite determinar la forma sobre la cual los elementos están ligados pero sí qué elementos están presentes.

1.5.1.5. Técnicas de análisis empleadas en colaboración con otros investigadores

Microscopía electrónica de barrido con microanálisis por energía dispersiva de rayos X

Esta técnica, la microscopía electrónica de barrido con microanálisis por energía dispersiva de rayos X (SEM-EDX), aporta gran información sobre sustancias inorgánicas a partir de una cantidad mínima de muestra. Aporta información sobre la composición química y una imagen morfológica en escala de grises. La imagen morfológica ofrece una imagen tridimensional de la muestra debido a los electrones secundarios que emergen como consecuencia de su barrido por un delgadísimo haz de electrones.

También se puede obtener una imagen a causa de los electrones retrodispersados registrable fotográficamente donde la densidad de los puntos blancos sobre fondo negro refleja la abundancia de elementos inorgánicos sobre los orgánicos. A su vez se puede obtener un espectro de cualquier punto de la muestra con el que, una vez interpretada, se podrán identificar los componentes exactos de la muestra.

Se empleó la instrumentación del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada y el apoyo técnico de su personal especializado.

Espectrometría de difracción de rayos X / espectrometría de fluorescencia de rayos X

Sistema portátil diseñado por los investigadores del laboratorio del Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France (C2RMF), que permite el estudio in situ del patrimonio cultural realizando el análisis XRF-XRD simultáneo localizado en un mismo punto sin necesidad de toma de muestra.

El análisis por XRF consiste en la emisión, por parte del material a analizar, de rayos X secundarios característicos cuando ha sido excitado por el bombardeo de rayos X de alta energía. Aporta información cualitativa y cuantitativa fiable acerca de la composición superficial de los materiales (de hasta unas micras de profundidad usando el prototipo mencionado).

El análisis por XRD aporta, por un lado, información sobre la estructura cristalina debido a la geometría de las direcciones de difracción que vienen condicionadas por el tamaño y forma de la celdilla elemental del cristal, presente en una muestra; y por otro lado, información sobre la composición interna, ya que la intensidad de los rayos difractados están íntimamente relacionados con la naturaleza de los átomos y las posiciones que ocupan en la red, por lo que su medida constituye la información tridimensional necesaria para conocer la estructura interna del cristal.

Espectroscopia micro-Raman

Se trata de una técnica de microanálisis espectroscópica basada en los fenómenos de dispersión Raman de la luz monocromática generada por un láser en el rango de luz visible, infrarrojo cercano o ultravioleta cercano. Puede llegar a aportar información acerca de materiales inorgánicos y orgánicos presentes en obras de arte, aunque la identificación de estos últimos suele presentar bastantes limitaciones debido a los fenómenos de fluorescencia.

El análisis fue realizado en colaboración con investigadores del Instituto de Ciencias de los Materiales de Sevilla perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

1.5.2. Técnicas separativas

1.5.2.1. Cromatografía líquida de alta eficacia

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es el tipo de cromatografía de elución más versátil y ampliamente utilizada. Se emplea para separar y determinar especies en diversos materiales orgánicos, inorgánicos y biológicos. Se utiliza una fase móvil líquida y una fase estacionaria muy finamente dividida.

El proceso de elución cromatográfica consiste en introducir la muestra junto con la fase móvil en la cabeza de la columna. A continuación se empieza a adicionar la fase móvil de forma continuada arrastrando de esta manera la muestra a través de la columna cromatográfica. A partir de este momento, el analito que tenga mayor interacción con la fase estacionaria se desplazará más lentamente (Figura 1.31). En el caso ideal, cada analito tendrá una velocidad distinta de elución y al llegar al extremo de la columna, pasarán de forma individual por el detector.

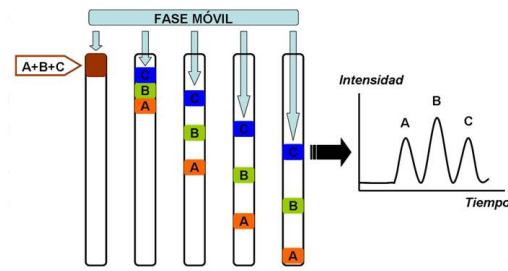


Figura 1.31: Esquema del proceso de elución cromatográfica.

El Equipo

Los componentes básicos de un equipo de Cromatografía líquida de alta eficacia son los siguientes (Figura 1.32):

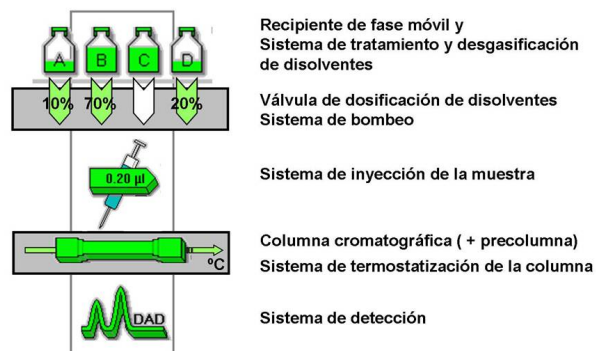


Figura 1.32: Esquema básico de un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia.

Recipiente de fase móvil y sistemas de desgasificación y tratamiento de disolventes: compartimento que contiene los recipientes de vidrio con los disolventes

que constituyen la fase móvil con un sistema de filtro y desgasificador que elimina las partículas en suspensión de los líquidos y los gases disueltos [Cela y col. 2002].

Válvula de dosificación de disolvente: la válvula introduce automáticamente líquidos de dos o más recipientes en proporciones que pueden variarse de manera continua por lo que puede trabajarse con gradientes.

Sistema de bombeo: está formado por un sistema de bombas capaces de generar una presión de flujo de hasta 6000 psi (libras por pulgada).

Sistema de inyección de la muestra: la muestra se inyecta en un bucle que contiene la mezcla de disolventes diseñada. De ahí pasará a la cabeza de la columna cromatográfica. La cantidad de muestra que se inyecta se encuentra en el orden de los microlitros.

Precolumna: situada delante de la columna cromatográfica con un relleno de las mismas características. Extrae las partículas y contaminantes de los disolventes y muestras prolongando así la vida de la columna cromatográfica.

Columna cromatográfica: es el elemento esencial del sistema cromatográfico. La columna cromatográfica contiene la fase estacionaria, posee un relleno de gel de sílice generalmente y será en ella donde se realice la separación cromatográfica.

Sistema de termostatación de la columna cromatográfica: la columna debe mantenerse en condiciones constantes de temperatura a lo largo de todo el análisis. Con los cambios de temperatura se consigue variar la viscosidad de la fase móvil y, por lo tanto, los parámetros que de ella dependan.

El sistema de detección empleado se desarrolla en el apartado 1.5.2.3.

El cromatograma

Los componentes de la muestra que han sido eluidos por la fase móvil, atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades debido a las posibles interacciones entre estos y dicha fase estacionaria. Desde ahí se dirigen al detector siguiendo una distribución gaussiana que se recoge, por tanto, en forma de curva. Dichas curvas se conocen como picos o bandas cromatográficas y su conjunto más la línea base se denomina cromatograma (Figura 1.33). El cromatograma es la representación gráfica de la respuesta del sistema de detección y ofrece información cualitativa y cuantitativa de la muestra.

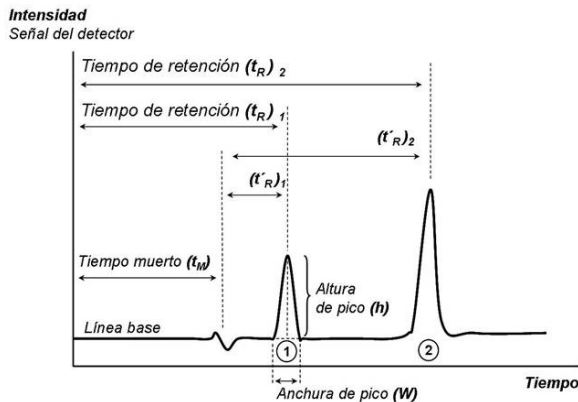


Figura 1.33: Esquema básico de un cromatograma.

La información cualitativa se obtiene a partir del tiempo de retención (t_R) de cada pico del cromatograma. Los picos cromatográficos son identificados por su t_R , que es el tiempo que tarda un analito en llegar al detector desde el comienzo del análisis.

La información cuantitativa se obtiene a partir del área o altura de cada pico que es proporcional a la cantidad de analito.

Parámetros cromatográficos

La resolución (R_S)

La resolución nos da una medida cuantitativa de la capacidad de la columna para separar dos analitos. Se basa en la relación entre la distancia que hay entre los ápices de los picos y la anchura de los mismos. Se define como:

$$R_S = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$$

Donde:

W :anchura de pico

Factor de retención

La retención en cromatografía líquida relaciona el tiempo de permanencia del soluteno en la fase estacionaria con el tiempo de permanencia del solutno en la fase móvil y se mide usualmente mediante el denominado factor de retención (K) definido como:

$$K = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R}{t'_M}$$

Donde:

t_R : tiempo de retención

t_M : tiempo muerto

t'_R : tiempo de retención corregido

Eficacia de la columna cromatográfica

La efcacia de una columna es el poder de separación o purificación de una mezcla de líquidos miscibles. *Esta* se ve afectada por el grado de ensanchamiento de pico que experimenta un componente a través de la columna y viene determinado por la altura de plato (H) y el número de platos teóricos (N).

El concepto de plato teórico se define como la porción del lecho cromatográfico en la que se alcanza el equilibrio de distribución entre los analitos con la fase móvil con la fase estacionaria.

Para determinar la eficacia de la columna se calcula el número de platos teóricos (N) y la altura equivalente de plato teórico (H) utilizando las siguientes ecuaciones desarrolladas por Foley y Dorsey [Foley y Dorsey, 1983].

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L \cdot W^2}{16t_R^2}$$

Donde:

L : Longitud de la columna

H : Altura equivalente de plato teórico

1.5.2.2. Electroforesis capilar

La electroforesis capilar es una técnica separativa que se define como “técnica de separación en la que las sustancias a analizar se separan en función de su diferente movilidad, en sentido y velocidad, bajo la acción de un campo eléctrico”.

El medio en el que los analitos son separados se denomina medio electroforético. Se trata de una disolución tampón por la que se conduce la corriente y mantiene la carga eléctrica de los analitos. Estos se moverán a distintas velocidades por esta disolución (medio electroforético) hacia el ánodo o el cátodo según su carga eléctrica. Esta velocidad de migración es directamente proporcional a la movilidad electroforética de la molécula, y además va a depender de la viscosidad del medio, el campo eléctrico, la carga eléctrica neta de la molécula y el tamaño de la molécula.

Hay distintos modos operatorios en electroforesis capilar. El que se ha empleado para el desarrollo de la identificación de los colorantes ha sido la electroforesis en zona (CZE), que consiste en que el movimiento de las especies cargadas se realiza a través de un capilar hueco por el que circula la disolución tampón que contiene la muestra. Otras modalidades son la electroforesis capilar en gel (CGE), isoelectroenfoque capilar (CIEF) e isotacoforesis capilar (CITP).

Fenómeno de migración

El movimiento de los analitos dependerá sobre todo de la carga eléctrica de la molécula. Una molécula con carga positiva (un catión) migrará hacia el electrodo con carga negativa (el cátodo) mientras que una molécula con carga negativa (un anión) se moverá hacia el electrodo con carga positiva (el ánodo). Las moléculas neutras no se verán influenciadas por este tipo de movimiento. Los iones no sólo se moverán dependiendo de la carga sino también de la masa de los mismos. Así la relación carga/masa será un parámetro fundamental en el fenómeno de la migración. La migración de las especies se da por dos fenómenos simultáneos: la electromigración y la electroósmosis.

a) Electromigración

Consiste en la separación de las especies cargadas gracias a las diferencias en las velocidades electroforéticas de cada una de las especies en función de su relación carga/tamaño. Estas velocidades electroforéticas son directamente proporcionales al campo eléctrico aplicado (V) e inversamente proporcionales a la longitud total del capilar (L_T) y viene dada por la expresión:

$$v_e = \mu_e \frac{V}{L_T}$$

donde:

v_e :velocidad electroforética

μ_e :movilidad electroforética

Igualmente, la movilidad electroforética (μ_e) de cada especie viene dada por:

$$\mu_e = \frac{e}{6\pi\eta r}$$

donde:

e :carga del soluto ionizado

η :viscosidad de la disolución tampón

r :radio del soluto

Para medir la velocidad y la movilidad electroforética es necesario conocer el tiempo que tarda un soluto en migrar desde el punto de inyección hasta el detector. Este tiempo se denomina tiempo de migración y si sólo se diera el fenómeno de la electromigración, su expresión sería:

$$t_M = \frac{L_T L_T^2}{\nu_e \mu_e V}$$

donde:

t_M : tiempo de migración

Despejando de esta expresión el valor de la velocidad o la movilidad electroforética, las expresiones resultantes son:

$$\nu_e = \frac{L_D}{t_M}$$

$$\mu_e = \frac{L_D L_T}{t_M V}$$

donde:

L_D : Longitud del capilar hasta el detector

Por lo tanto, conociendo parámetros experimentales como el tiempo de migración, voltaje aplicado y dimensiones del capilar se puede conocer la velocidad o movilidad electroforética de un soluto. Aunque los valores reales se obtendrán teniendo en cuenta el otro fenómeno que ocurre en las separaciones electroforéticas y que se denomina electroósmosis.

b) Electroósmosis

La electroósmosis es el movimiento de la disolución tampón a través del capilar con respecto a una superficie cargada bajo la acción de un campo eléctrico. A esto se debe el flujo electroosmótico (FEO) que va a depender de la composición del capilar y de la naturaleza de la disolución tampón. Los capilares que se han utilizado son de sílice fundida. Sus paredes tienen grupos silanoles ($\text{Si}^- - \text{OH}$) que se ionizan dando grupos que pueden estar cargados positivamente (SiOH^{2+} o negativamente (SiO^-), o incluso neutros (SiOH), dependiendo del pH de la disolución tampón.

Para asegurar la carga negativa del capilar se pasa una disolución básica de KOH o NaOH a una concentración aproximada de 0,1 M. Las cargas positivas de la disolución tampón serán atraídas por las cargas negativas de los grupos silanoles formando una capa inerte de cationes denominada capa fija, que estará fuertemente unida a la pared del capilar.

Sobre ésta, se adherirá otra capa de cationes ya que la anterior no es lo suficientemente densa como para compensar todas las cargas negativas. La segunda capa de cationes está unida de manera más débil a la pared del capilar y se conoce como capa móvil. El conjunto de estas dos capas forman la doble capa difusa. Al aplicar un campo eléctrico, la capa móvil es atraída hacia el cátodo arrastrando a su vez a la disolución tampón y es, por lo tanto, causante del flujo electroosmótico.

El FEO es la fuerza motriz mayor en la separación y explica que tanto cationes como aniones migran a un mismo electrodo. El flujo electroosmótico presenta un perfil de velocidades cuasi plano porque la fuerza conductora en sistemas conducidos por electricidad se distribuye uniformemente a lo largo del capilar.

El perfil plano de flujo es el motivo por el cual no se producen ensanchamientos en los picos electroforéticos, hecho que justifica las eficacias tan elevadas que se consiguen por esta técnica. En cambio, cuando el flujo se produce por presión, como es el caso de la cromatografía líquida de alta resolución, el perfil de flujo es parabólico, dando lugar a picos cromatográficos anchos.

El Equipo

Los componentes básicos de un instrumento de Electroforesis Capilar son los siguientes (Figura 1.34):

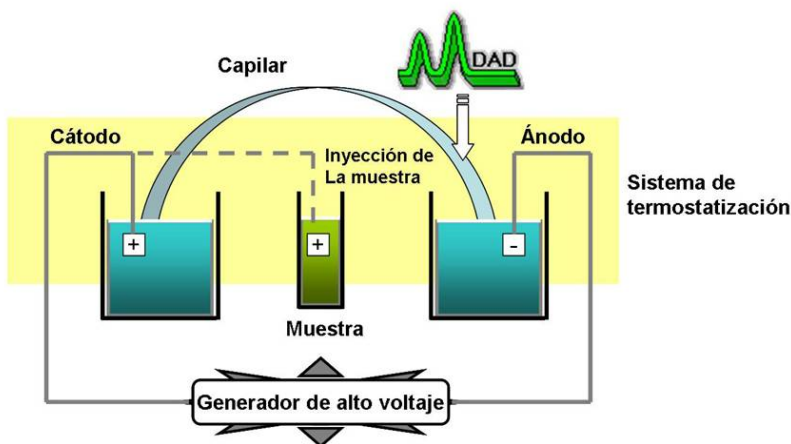


Figura 1.34: Esquema básico de un equipo de electroforesis capilar

Generador de alto voltaje: es una fuente de alimentación que produce un voltaje entre 5 y 30 kV. La fuerza iónica de la disolución tampón debe generar una corriente comprendida entre 10 y 100 μ A al aplicar el voltaje.

Capilares: los materiales más empleados en la fabricación de capilares han sido teflón, pirex y sílice fundida. De todos ellos el último es el más aconsejable por poseer mayor transparencia, conductividad térmica alta y diámetros muy pequeños. El único inconveniente que presenta es que se trata de un material muy frágil, pero para subsanarlo se recubre de una capa de poliimida de 10 a 30 μ m que aumenta considerablemente su flexibilidad.

Sistema de termostatación: el enfriamiento de los capilares es un factor indispensable ya que minimiza la posibilidad de una descomposición de los analitos, permite la utilización de voltajes elevados, mejora la reproducibilidad de los tiempos de migración y de los picos electroforéticos, altura y área.

Sistemas de inyección de la muestra: los sistemas de inyección más utilizados son la inyección hidrodinámica y la inyección electrocinética. En ambos casos la muestra entra por el extremo del capilar que está colocado en el recipiente con la muestra. En el caso de la inyección hidrodinámica, la introducción de la muestra se realiza por presión, succión o efecto de la gravedad. En el caso de la inyección electrocinética, se aplica un pequeño voltaje durante un periodo de tiempo concreto en el recipiente donde se encuentra la muestra junto con el ánodo y el extremo del capilar. De esta manera, los componentes de la muestra migrarán hacia el interior del capilar en dirección al cátodo.

El sistema de detección empleado se desarrolla en el apartado 1.5.2.3.

El electroferograma

La señal recogida por el sistema de detección se refleja en una gráfica llamada electroferograma compuesto por la línea base y los picos electroforéticos (Figura 1.35). Los picos se ordenarán según su tiempo de migración de menor a mayor, saliendo primero los componentes catiónicos seguidos de los neutros y por último los aniónicos. El electroferograma ofrece información cualitativa y cuantitativa de la muestra.

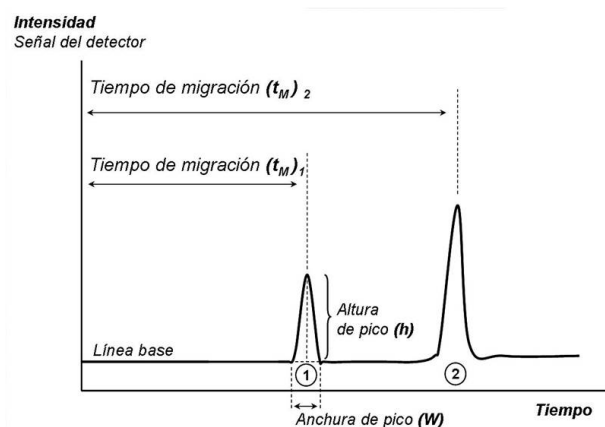


Figura 1.35: Diagrama básico de un electroferograma.

La información cualitativa se obtiene a partir de los tiempos de migración (t_M) de cada pico, que será constante bajo condiciones idénticas para cada componente. Por lo tanto el t_M será un parámetro para identificar los analitos.

La información cuantitativa se obtiene a partir del área o altura de los picos electroferográficos, permitiéndonos establecer curvas de calibrado con cantidades conocidas de componentes y así poder determinar la concentración de una muestra problema.

Parámetros de calidad

Los parámetros que determinan la calidad de una separación son:

a) Tiempo de análisis

Los resultados se deben obtener en el menor tiempo posible. Para ello se debe utilizar capilares cortos, voltajes altos y flujos electroosmóticos altos. Pero cuanto mayor sea el flujo electroosmótico, peor es la resolución, por lo que es mejor acortar el tiempo de análisis aumentando el voltaje y acortando el capilar en lugar de aumentar el flujo electroosmótico.

b) Eficacia

La eficacia (capacidad para originar picos de buenas características de anchura y simetría) se mide a través del número de platos teóricos (N). Picos estrechos y con alto tiempo de migración tendrán un número de platos teóricos elevado y por tanto será de mayor eficacia. La eficacia de la separación es igual que el número de platos teóricos. Depende del voltaje. A mayor voltaje mayor será la eficacia. Pero el límite del voltaje que se puede emplear es de 30kV ya que el límite de intensidad de la corriente eléctrica está limitado por el efecto térmico o Efecto de Joule que optimizó el valor del máximo.

c) Resolución

La resolución expresa la calidad de una separación. Se conoce como resolución a la medida del grado de separación de los componentes constituyentes de una misma muestra. Infiere en la resolución la longitud del capilar. Al aumentar la longitud del capilar aumenta el tiempo de análisis por lo que se debe llegar a un compromiso

entre el menor tiempo de análisis pero con la máxima resolución. También aumenta al aumentar el voltaje aplicado, optimizando el pH, la composición de la disolución tampón y optimizando el flujo electroosmótico.

d) Selectividad

La selectividad expresa la capacidad que presenta un método para detectar o determinar analitos concretos en matrices o mezclas sin interferencia de otros componentes. Se refiere a la separación que se consigue entre los ápices de los picos correspondientes a dos solutos en un electroferograma. La mejor forma de modificar la selectividad es cambiar el pH y la composición de la disolución tampón. En cuanto a los parámetros de separación:

1.5.2.3. Sistemas de detección para HPLC y CE

Para seleccionar el sistema de detección más adecuado hay que tener en cuenta la naturaleza de las moléculas que se van a detectar. Los sistemas de detección pueden ser técnicas ópticas, como la detección por espectrometría UV-vis, detección luminiscente, espectrometría Raman o detectores de índice de refracción; técnicas electroquímicas como la detección amperométrica, conductimétrica o potenciométrica; y otras técnicas de detección como la espectrometría de masas o la detección por técnicas radioquímicas.

En el caso de la cromatografía líquida de alta resolución, se ha empleado un detector de diodos en línea (PDA) compuesto por una lámpara de deuterio o tungsteno que produce una luz blanca sobre un monocromador que selecciona la longitud de onda adecuada produciendo una luz monocromática que se enfoca sobre la ventana de detección. La luz que atraviesa la muestra se recoge en un fotodiodos. El rango del detector comprende entre 190 y 800nm en el equipo empleado. El detector emite una luz blanca que atraviesa primero la muestra y después el monocromador. De este modo, se pueden obtener cromatogramas a distintas longitudes de onda con una sola inyección de muestra, pudiendo seleccionar longitudes de onda distintas para cada analito a estudio.

Para la identificación de los materiales por electroforesis capilar, se ha empleado un detector de diodos en línea (PDA) y un espectrómetro de masas con ionización por electronebulizador (ESI-MS).

En el caso del detector PDA acoplado a CE, la luz monocromática generada por la selección realizada por el monocromador, se enfoca sobre la ventana de detección del capilar. La luz que atraviesa éste capilar se recoge en un fotodiodos. El tamaño del haz de luz que incide sobre el capilar no debe ser superior al diámetro interno de éste, así se evitan los fenómenos de luz parásita. Una rendija colocada entre la lente de enfoque y el capilar permite determinar el tamaño del haz de luz. La ventana de detección del capilar debe estar exenta del recubrimiento de poliimida exterior. El rango del detector comprende entre 190 y 600 nm en el equipo empleado. En este caso también se pueden obtener electroferogramas a distintas longitudes de onda con una sola inyección de muestra, pudiendo seleccionar longitudes de onda distintas para cada analito a estudio.

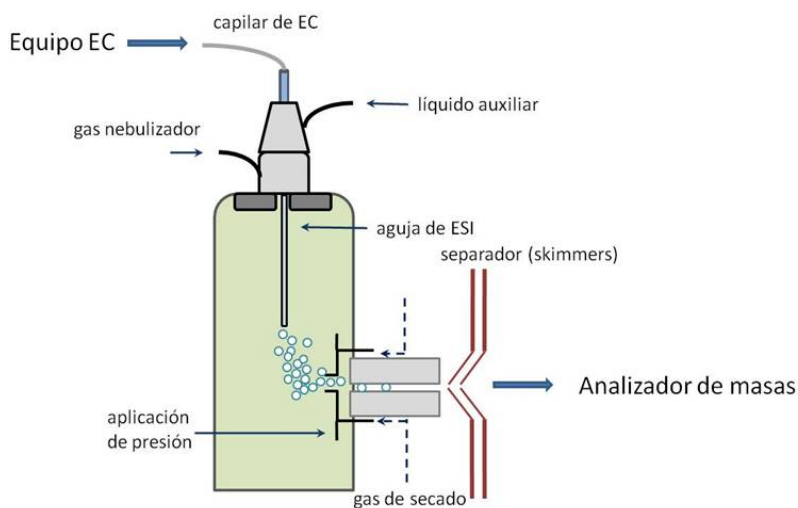


Figura 1.36: Esquema de del instrumento para ionización por electronebulización.

El segundo sistema de detección fue la espectroscopía de masas acoplada con ionización por electronebulizador (ESI-MS) (Figura 1.36). La ionización por electronebulizador se realiza en condiciones atmosféricas de presión y temperatura. El analito que será ionizado se introduce disuelto en un solvente volátil a través de

un capilar de metal muy pequeño cargado a un flujo de algunos microlitros por minuto. El capilar metálico se mantiene a un potencia de varios kilovoltios con respecto al electrodo cilíndrico que rodea a dicha aguja. A causa de la repulsión de las cargas eléctricas, el líquido, al salir del capilar, formará un aerosol con partículas altamente cargadas. Después pasará a través de un capilar de desolvatación donde al evaporarse el disolvente, las moléculas del analito se aproximan, repelen y finalmente, cuando la repulsión de las cargas positivas vence la tensión superficial, estallan (explosión de Coulomb). Este proceso se repite hasta que el analito queda libre de solvente. Por último, los iones se transportan hacia el espectrómetro de masas. Este equipo permite analizar, con gran precisión, la composición de elementos químicos e isótopos atómicos separando los núcleos atómicos en función de la relación masa/carga (m/z).

1.5.2.4. Comparación entre los métodos de separación empleados.

Las ventajas e inconvenientes que se pueden encontrar entre separaciones realizado por HPLC y CE se resumen en los siguientes puntos:

- La cantidad de muestra necesaria para el análisis por CE es muy pequeña, del orden de los nanolitros, mientras que en HPLC se emplean muestras del orden de los microlitros.
- CE consume cantidades muy pequeñas de reactivos (mililitros frente a litros en HPLC).
- En ambas técnicas se permite el trabajo con disoluciones acuosas, por lo que se pueden inyectar directamente las muestras disueltas en agua.
- Las separaciones en ambas técnicas se pueden llevar a cabo a temperatura ambiente, evitando la posible descomposición o desnaturalización de las muestras que son sensibles a las temperaturas elevadas o especialmente bajas.
- Las separaciones realizadas con CE presentan una eficacia muy alta, al trabajar con capilares muy pequeños en los cuales se disipa muy bien el calor generado por aplicación de voltajes altos. Esto minimiza el ensanchamiento de los picos electroforéticos, obteniendo eficacias de 400.000 platos teóricos

que compiten favorablemente con los que se consideran altos en HPLC (unos 20.000 platos teóricos).

- Presentan tiempos de separación muy cortos al emplear voltajes altos y capilares cortos, considerablemente menores a los obtenidos por HPLC para los mismos analitos.

- Ambas son fácilmente automatizable en distintas etapas del proceso, tanto en la inyección de la muestra como para la toma, cuantificación y almacenamiento de los datos.

1.6. Resumen / Abstract / Résumé

Siguiendo las especificación del modelo de tesis doctoral con mención internacional y con el fin de facilitar al lector el seguimiento de los capítulos, se presentan las siguientes tablas a modo de resumen (tablas 1.7,1.8 y 1.9) donde se pueden situar los analitos, técnicas y aplicaciones implicadas en cada capítulo de esta memoria.

Capítulo	Materiales estudiados	Aplicación	Técnicas
1	Colorantes orgánicos naturales envejecidos artificialmente	Documentos gráficos	Espectroscopía Uv-Vis
			HPLC-PDA
2	Colorantes rojos orgánicos naturales	Colección de pergaminos manuscritos	CE-PDA
	Aglutinante		
3	Colorantes rojos orgánicos sintéticos	Textiles	Espectroscopía Uv-Vis
			Espectroscopía de absorción por reflexión difusa
			Espectrometría de fluorescencia de rayos X
			Colorimetría
4	Colorantes orgánicos sintéticos	Filmcolor (Autocromo)	CE-PDA
			CE-ESI-MS
5	Colorantes	Pergamino manuscrito	CE-PDA
	Pigmentos		Espectroscopía micro-Raman
	Cargas		XRF/XRD
			SEM/EDX

Tabla 1.7: Resumen

Chapter	Material studied	Application	Techniques
1	Artificial aged natural organic dyes	Graphic documents	UV-Vis spectroscopy
			HPLC-PDA
2	Natural organic red dyes	Collection of parchment manuscripts	CE-PDA
	Binder		
3	Synthetic organic red dyes	Textiles	UV-Vis spectroscopy
			Absorption spectroscopy/diffuse reflection
			X-ray fluorescence spectrometry
			colorimetry
4	Synthetic organic dyes	Filmcolor (Autochrome)	CE-PDA
			CE-ESI-MS
5	Dyes	Illuminated parchment	CE-PDA
	Pigments		Micro-Raman spectroscopy
	Fillers		XRF/XRD
			SEM/EDX

Tabla 1.8: Abstract

Chapitre	Matériaux	Application	Techniques
1	Colorants organiques naturels artificiellement	Documents graphiques	Spectroscopie UV-vis
			HPLC-PDA
2	Colorants organiques naturels rouges	Collection de parchemins manuscrits	CE-PDA
	Liant		
3	Colorants organiques synthétiques rouges	Textiles	Spectroscopie UV-vis
			Spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse
			Spectrométrie de fluorescence X
			colorimétrie
4	Colorants organiques synthétiques	Filmcolor (Autochrome)	CE-PDA
			CE-ESI-MS
5	Colorants	Parchemin illuminé	CE-PDA
	Pigments		Spectroscopie micro- Raman
	Charges minérales		XRF/XRD
			SEM/EDX

Tabla 1.9: Résumé

Parte II

Identificación y caracterización de materiales

Capítulo 2

Identificación de materiales colorantes tras un proceso de envejecimiento acelerado

RESUMEN

La composición química y las características físicas de los materiales artísticos (soporte, capa pictórica, capa de protección...) dependen de diferentes factores tales como la fuente de origen, el procedimiento utilizado para su aplicación, las condiciones de almacenamiento a través del tiempo y el proceso de envejecimiento. Se destaca, en este punto, la problemática de la identificación de los colorantes orgánicos después de su envejecimiento, ya que en muchos casos pueden haberse modificado sus características físicas o químicas.

Para la identificación de los colorantes bajo estas condiciones se realizó un estudio comparativo entre las muestras patrón sin envejecer y las muestras artificialmente envejecidas en una cámara climática sometiénolas a condiciones drásticas de humedad, temperatura e iluminación.

Las técnicas que se emplearon para identificar y evaluar los cambios sufridos por estos colorantes fueron la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la espectroscopía UV-visible.

ABSTRACT

Chemical composition and physical characteristics of art materials (support, paint layer, protection layer. . .) depend on different factors such as their origin, the application process, the storage conditions throughout the centuries and the ageing processes. It is important to acknowledge that the identification of aged organic dyes can be difficult due to the possible changes that their physical and chemical characteristics could have undergone with time.

A comparative study between standard samples and samples aged in a controlled climate chamber under extreme conditions of humidity, temperature and light was carried out.

The techniques of identification and evaluation used were High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and UV-visible spectroscopy.

RÉSUMÉ

La composition chimique et les caractéristiques physiques des matériaux artistiques (support, couche picturale, couche de protection. . .) dépendent de différents facteurs comme la provenance du matériau, le procédé employé pour l'application, les conditions de stockage à travers le temps et les processus de vieillissement. Il est important de souligner la difficulté technique de l'identification des colorants organiques vieillis à cause des modifications qu'ont pu subir leurs caractéristiques physiques et chimiques avec le temps.

Pour l'identification des colorants, nous avons effectué une étude comparative entre des échantillons de référence et des échantillons vieillis artificiellement en chambre climatique en conditions drastiques d'humidité, température et lumière.

Les techniques utilisées pour l'identification et l'évaluation ont été la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et la spectroscopie UV-Visible.

2.1. Introducción

Si hacemos un intento por imaginar cómo sería la vida en otra época, es inevitable comenzar coloreando nuestra escena. Si situamos nuestra imaginación en la prehistoria, dominan los tonos ocres. Si intentamos recrear una escena medieval, la teñiremos de púrpuras, rojos y dorados, y si, por el contrario, pensamos en el futuro, lo imaginaremos inundado de colores metálicos. Pero estas recreaciones, en la mayoría de los casos, no concuerdan con la realidad de la época.

Una recreación realista de los colores del pasado se ve enormemente dificultada porque el paso del tiempo los ha modificado de manera extraordinaria [Bonford, 1995]. Apenas si quedan restos de los brillantes colores de las esculturas griegas o de las catedrales góticas y muchas de las pinturas murales que han llegado a nuestros días han sufrido graves modificaciones cromáticas. El envejecimiento natural, las condiciones ambientales y la mano del hombre, han hecho que, a menudo, estos cambios o pérdidas sean irreparables.

Sin embargo, para poder reconstruir el pasado, entender las culturas, interpretar su simbología... es necesario intentar reconstruir, de la manera más fiel posible, esa riqueza cromática, haciendo un estudio exhaustivo del color, elemento unido al hombre desde el principio de los tiempos y al que le da múltiples valores usándolo, incluso, para modificar su apariencia y su entorno natural [Hutchings, 2004].

Las variaciones cromáticas, debidas a diferentes causas, es uno de los factores principales que ha llevado a los historiadores del arte a elaborar erróneas teorías basándose, casi exclusivamente, en el examen visual. Otro factor importante es el medio por el que nos ha llegado la información de los materiales y de las técnicas empleadas a lo largo de la historia para la creación de las obras de arte: textos y recetas difíciles de transmitir y de lexicografía compleja de difícil traducción [Déroche, 2000].

La aplicación del método científico para el estudio de las obras de arte ha cambiado esta situación: el estudio físico y químico de los materiales, el intento por recrear antiguas recetas y los procesos de restauración, junto con algunos sucesos anecdóticos o accidentales, han hecho que se cuestionen algunas de estas teorías, hasta ahora dadas por ciertas.

Con el objetivo de estudiar de manera científica los materiales y técnicas empleadas en las obras de arte se diseñaron consecutivos proyectos de investigación

(MAT 2002-01903 y CTQ 2005-07717) mediante una colaboración entre los Departamentos de Pintura y de Química Analítica de la Universidad de Granada. La principal motivación era la aplicación de este conocimiento a los documentos gráficos para poder situarlos en un marco cronológico y geográfico correcto, completar la recreación de la historia y uso del color, y estudiar los cambios inducidos por diversos factores que han afectado a las tintas de dichos documentos [López-Montes, 2006] [Durán, 2006]. De esta manera se pueden establecer los protocolos de restauración y conservación idóneos atendiendo a la particularidad de cada pieza.

Durante la revisión de la bibliografía existente se acreditó la abundancia de publicaciones donde se recogen estudios sobre colorantes orgánicos naturales de origen animal o vegetal, debido principalmente a su interés en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria [García-Falcón y Simal-Gándara, 2005] [senacke-rib, 2000] [Chigurupati, y col., 2002]. También se han encontrado trabajos sobre identificación de colorantes empleados como capas pictóricas [Millani, Romani y Favaro, 1998], [Buti y col., 2014] o como tintes para textiles. La mayoría de ellos se centran en la identificación y caracterización de materiales [Seixas de Melo, 2004].

En los últimos años ha crecido el interés por la valoración de las alteraciones que pueden sufrir estos materiales por efecto de agentes externos o por el propio envejecimiento natural. En la última década aparecen los primeros estudios sobre la influencia de los factores ambientales en colorantes naturales (cochinilla, palo de Brasil, azafrán, amarillo indio e índigo entre otros) [López Montes, 2008], estudios relativos al envejecimiento acelerado de colorantes usados en documentos gráficos (cochinilla, azafrán, índigo y granza) [Plata y col., 2006] [Kampasakali y Varella, 2008] [Gosetti y col, 2015], donde se describen las variaciones tonales producidas, envejecimiento de sustancias rojas empleadas como tintes en textiles [Clamente y col., 2007] [Degano y col., 2011], degradación de los carotenoides del azafrán [Selim, Tsimido y Biliaderis, 2000], y alteraciones de la molécula de índigo independientemente de su aplicación [Rondao, 2010].

Debido a la escasez de publicaciones en comparación con la magnitud de este campo, se ha querido abordar esta investigación cuyo objetivo principal es evaluar los cambios físicos y químicos de los colorantes simulando los procesos de envejecimiento natural para ayudar a su identificación en obras de arte y saber si están presentes a pesar de las alteraciones que hayan podido sufrir.

El estudio se ha realizado sometiendo a los colorantes a un proceso de envejecimiento acelerado, en disolución (como elemento independiente) y aplicados sobre papel (como material colorante). Se han valorado las variaciones de color por espectrometría UV-vis, y las modificaciones en la composición por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de diodos en línea.

Se recoge, en este capítulo, el ensayo de envejecimiento que se ha realizado sobre los colorantes orgánicos que fueron objeto de estudio de la Tesis Doctoral a la que está ligada esta investigación. Estos son: rojo carmín, rojo de rubia, amarillo de azafrán, amarillo de goma guta y azul de índigo.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Materiales, reactivos y disolventes

El papel seleccionado como soporte para el estudio ha sido de fibra de yute de factura artesanal por su gran contenido en celulosa, de gran estabilidad y resistencia, y sin adición de encolantes ni colorantes durante el proceso de fabricación. Fue elaborado por el molino papelerero de Capellades.

Los colorantes naturales empleados fueron obtenidos de diferentes fuentes: el rojo de carmín fue extraído del insecto *Coccus cacti*, el rojo de rubia de la raíz de la planta *Rubia tinctorum*, el amarillo de azafrán de los estigmas de la planta *Crocus sativus* L., el amarillo de goma guta de la resina del árbol *Garcinia hanburü* y el azul de índigo de las hojas prensadas de la planta *Indigofera tinctoria*. Todos los productos naturales (insectos y plantas) fueron suministrados por Kremer-Pigmente (Cracovia, Polonia).

El reactivo dodecil sulfato sódico (SDS) fue suministrado por Sigma Aldrich Chemie (Steinheim, Alemania).

El agua empleada, en todos los casos, fue purificada mediante el sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, USA).

Los disolventes metanol, ácido acético (99 % de pureza) y ácido trifluoroacético (99 % pureza) fueron proporcionados por Merck (Darmstadt, Alemania); el acetonitrilo fue proporcionado por Panreac (Barcelona, España), y todos ellos fueron de calidad gradiente-HPLC.

Todos los disolventes y disoluciones de los reactivos fueron filtrados a través del sistema Milli-Q plus con membranas de nylon de 0,2 μm de tamaño de poro

(Millipore, Bedford, MA, USA).

2.2.2. Instrumentación y programas informáticos

Para la extracción de los colorantes y preparación de muestras se empleó un baño de ultrasonidos Selecta (Barcelona, España).

El equipo utilizado para las mediciones de pH ha sido un pH-metro CRISON Instruments S.A. D501.

Para realizar los espectros de absorbancia de los colorantes se ha empleado un equipo Agilent 8453E (Waldbronn, Alemania) realizando el tratamiento de datos con el programa Chemstation.

El equipo cromatográfico fue Agilent 1100 series HPLC (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipado con una bomba cuaternaria, un desgasificador, muestreador automático, inyección automática, un compartimento de termostatación de la columna y un detector de diodos acoplado en línea. La separación cromatográfica se llevó a cabo con una columna Luna NH₂ 100a (250 mm x 4,6 mm d.i., 5 µm partícula) de Phenomenex (Torrance, USA). La columna se protegió con una precolumna NH₂ amino-aminopropileno (Phenomenex) de 4 mm x 3 mm d.i. El cromatógrafo fue controlado a través del programa ChemStation para LC 3D (Agilent).

La cámara de envejecimiento utilizada fue Solarbox 3000e RH (Italia) equipada con una lámpara de xenón (irradiancia 300-800 nm) y filtro indoor S208/S408¹. El programa empleado para el control de las condiciones fue Xen43.

2.2.3. Preparación de las muestras

2.2.3.1. Extracción de los colorantes

Para extraer el rojo de carmín se colocaron 10 insectos en un vaso de precipitado con 50 mL de agua calidad Milli-Q a 30 °C durante 15 min. Después, la disolución coloreada fue filtrada con papel de filtro neutro.

El rojo de Rubia² se extrajo de la raíz de Rubia tinctorum L. triturada colocando 3 gr en un vaso de precipitado con 50 mL de agua calidad Milli-Q a 30 °C

¹Placa de vidrio sódico-cálcico de larga vida útil para condiciones de exposición en interior con revestimiento para la retención del infrarrojo.

²Comunmente llamado rojo de granza entre los pintores.

durante 15 min. La disolución coloreada fue filtrada con papel de filtro neutro.

Para la obtención del colorante amarillo de azafrán se colocaron 15 estigmas de la flor del azafrán en un vaso de precipitado con 50 mL de agua calidad Milli-Q. Después de dejarlo reposar, la disolución, que se colorea rápida y fácilmente, se transfirió a otro vaso de precipitado retirando los estigmas.

El amarillo de goma guta se preparó colocando 1 gr de resina en un vaso de precipitado con 50 mL de metanol en un baño de ultrasonidos durante 20 min. La disolución coloreada fue filtrada con papel de filtro neutro.

Para obtener el azul índigo, se tomaron 0,2 gr de las hojas prensadas de la planta *Indigofera Tinctoria* y se colocaron en un vaso de precipitado con 50 mL de ácido acético en una concentración de 17,5 M en un baño de ultrasonidos durante 45 min. La disolución fue filtrada con un filtro de nylon de 0,2 μm de tamaño de poro.

2.2.3.2. Preparación de las muestras para el envejecimiento artificial

Se prepararon dos grupos de muestras: Grupo I compuesto por los colorantes aplicados sobre papel, y Grupo II de colorantes en disolución.

Para el Grupo I de muestras (colorantes sobre papel) con ayuda de un pincel de cerda muy suave, se aplicó una capa de color homogénea sobre el papel. Este proceso se repitió 3 veces dado el poco poder cubriente de los colorantes, que al no estar aglutinados con ninguna sustancia, simplemente teñían el papel.

Para el Grupo II de muestras (colorantes en disolución) se prepararon viales de vidrio transparente que contenían las disoluciones: rojo de carmín, rojo de rubia y amarillo de azafrán disueltos en agua, el amarillo de goma guta en metanol y el azul de índigo en ácido acético.

Las muestras se introdujeron en la cámara de envejecimiento en las condiciones adecuadas para el estudio (muestras LUZ), y una réplica de cada una de las muestras de ambos grupos se mantuvieron en condiciones estables de humedad y temperatura (25 °C y 30 % de HR) protegidas de la luz, que se emplearían como muestras de referencia y control (muestras REF) (Figura 2.1).



Figura 2.1: Situación de las muestras en el interior de la cámara de envejecimiento.

2.2.3.3. Toma y tratamiento de muestra para análisis

Las muestras del Grupo I se tomaron con la ayuda de un pincel frotando suavemente sobre una superficie de 1 cm^2 , introduciéndolas en un micro-vial al que se añadió $100 \mu\text{l}$ de SDS $0,1 \text{ M}$ en disolución acuosa. Ninguna de las muestras se filtró para evitar que parte del colorante se quedara atrapado en la membrana [Blanc y col., 2006]. Para las muestras del Grupo II se tomó un volumen de 3 mL y se introdujo en la cubeta de cuarzo para ser analizada directamente en el equipo UV/vis.

2.2.4. Metodología analítica aplicada

Para llevar a cabo este estudio se utilizó la siguiente metodología analítica.

2.2.4.1. Condiciones del envejecimiento artificial acelerado

Las condiciones seleccionadas para la cámara climática respondieron a las normas ISO 5630-3:1996³ e ISO 11341:2004⁴, que fueron 80 °C, 65 % de H_R e irradiancia de 550 Wm^{-2} con filtro para eliminar la radiación ultravioleta (filtro indoor). Los tramos de envejecimiento fueron de 0h, 24h, 48h, 72 y 144h.

2.2.4.2. Espectrofotometría UV-vis

Después de cada sesión de envejecimiento para la identificación de los distintos colorantes, se extrajeron 3 ml de las disoluciones del Grupo II para introducirlos en la cubeta de cuarzo. El estudio de absorción se realizó en un rango comprendido entre 190 y 1100 nm. Se realizaron 3 réplicas instrumentales y 3 réplicas experimentales de cada condición.

2.2.4.3. Cromatografía líquida de alta eficacia

La metodología analítica aplicada para la identificación de los distintos colorantes mediante HPLC fue desarrollada con anterioridad [Blanc y coñ, 2006]. Los parámetros cromatográficos fueron los siguientes.

La fase móvil consistió en una disolución de SDS 40 mM con tampón fosfato 10 mM (pH 2.3) y 0,1 % de ácido trifluoroacético como eluyente A. Como eluyente B se usó acetonitrilo con un programa gradiente de 5 % de B a 95 % de B en 45 min frente al diluyente A. El flujo fue de 0,6 ml/min hasta el minuto 40 y aumentando a 1ml/min hasta el final de la separación. La columna se mantuvo a 45°C y el volumen de inyección fue de 20 μl . La detección se llevó a cabo con un detector de diodos (PDA) instalado en el equipo ofreciendo información espectral en pasos de 2 nm entre 190 y 900 nm durante todo el análisis cromatográfico. Se realizaron 3 réplicas instrumentales y 3 réplicas experimentales de cada condición.

³Papel y cartón. Envejecimiento acelerado. Parte 4: Tratamiento con calor húmedo a 80°C y 65 % de humedad relativa.

⁴Pinturas y barnices. Envejecimiento artificial y exposición a radiación artificial de luz filtrada de arco de xenón.

2.3. Resultados y discusión

El comportamiento ante el envejecimiento acelerado de los colorantes estudiados ha sido dispar, resultado esperable ya que sus composiciones son distintas, aunque sí se ha observado, como resultado común y según reza en la bibliografía consultada, que los colorantes aplicados sobre un soporte celulósico adquieren mayor resistencia a las alteraciones provocadas por el envejecimiento acelerado [Gosetty y col., 2015 [Rondao, 2010].

Las muestras del Grupo I se analizaron por HPLC-PDA y los datos que se emplearon para la identificación de los colorantes fueron el tiempo de retención (tR) y el espectro UV-vis obtenido en los máximos de los picos cromatográficos.

Se recurrió a la preparación de las muestras del Grupo II para su estudio por espectrofotometría con el fin de caracterizar e identificar los espectros correspondientes a los distintos colorantes (labor imprescindible para la identificación de los picos cromatográficos), y para estudiar la evolución del envejecimiento de estos colorantes independientemente del soporte al que se encuentren fijados.

2.3.1. Rojo de Rubia

La tonalidad del rojo procedente de la raíz de *Rubia tinctorum* resistió hasta el final de proceso de envejecimiento tanto en las muestras del Grupo I (Figura 2.2) como en las muestras del Grupo II (Figura 2.3).

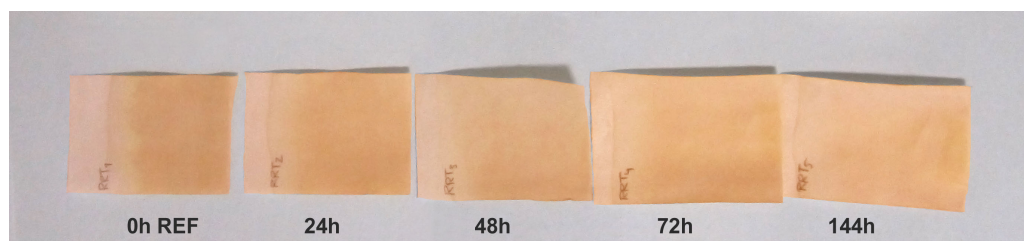


Figura 2.2: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de rojo de Rubia.

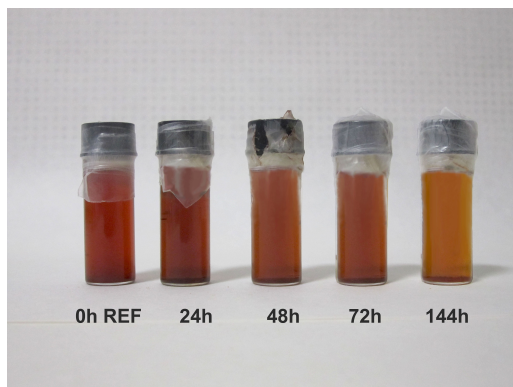


Figura 2.3: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de rojo de Rubia.

Durante el estudio del Grupo I por HPLC (Figura 2.4), se observó que la muestra de referencia a 0h presentaba 2 picos cromatográficos correspondientes al alizarín (t_R : 33,501 min) y purpurín (t_R : 36,286 min), los dos componentes principales del colorante obtenido de la raíz de Rubia. Estos compuestos se habían definido previamente en un trabajo anterior mediante HPLC-PDA y el uso de patrones [blanc y col. 2006].

A partir de la primera sesión de envejecimiento y hasta las 72h, estas señales fueron disminuyendo en área y altura, llegando a ser completamente imposibles de identificar a 144h.

El espectro UV-vis obtenido de las muestras del Grupo II (Figura 2.4), mostró idénticos resultados, perdiendo intensidad de absorción respecto al espectro de referencia (201, 236, 280 y 510 nm) [Blanc y col. 2006]. A partir de las 72 h se observó un desplazamiento de la banda de absorción de 510 nm a 430 nm, lo que indica una tendencia de la tonalidad roja hacia el amarillo, como puede observarse en los viales de la figura 2.3.

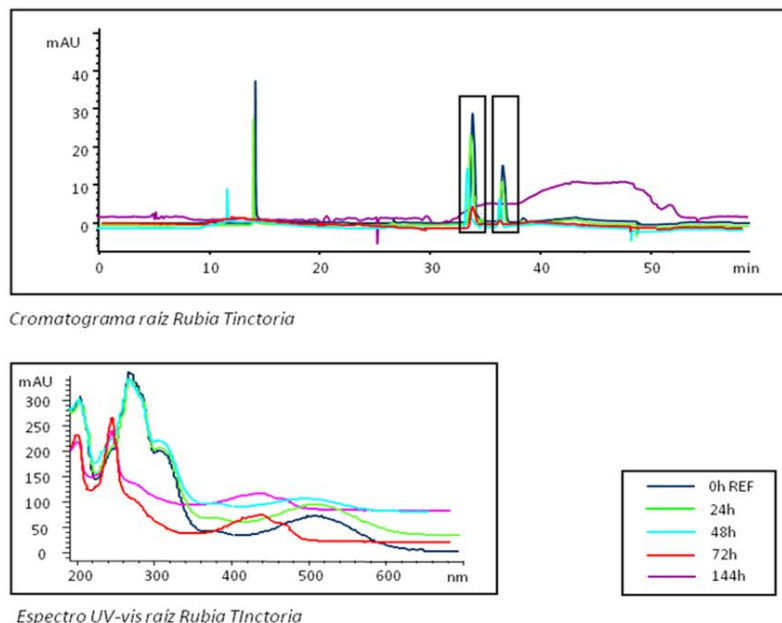


Figura 2.4: Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de rojo de Rubia.

Según C. Clementi et col. [Clementi y col., 2007], en sus estudios realizados sobre el envejecimiento de estas sustancias empleadas como colorantes textiles, el purpurín es el principal componente de esta planta, responsable de las propiedades cromáticas del rojo de Rubia y, por lo tanto, de su espectro de absorbancia. Según sus investigaciones, también lo hace responsable de la degradación de este rojo, siendo la degradación fotoquímica, debido a la exposición a la luz, el factor más importante. En sus estudios marca las variaciones obtenidas en los espectros de absorbancia y los estudios cromatográficos (al igual que se ha hecho en esta sección), pero tampoco identifica la presencia de nuevos compuestos ni el proceso químico de la degradación de alizarín y purpurín como ha ocurrido en nuestro caso.

I. Degano y col. [Degano y col., 2007] presenta una lista de productos secundarios encontrados en muestras históricas de textil envejecidas de manera natural que podrían ser atribuidas al deterioro del rojo de Rubia y a su combinación con otros productos presentes. Esta hipótesis no la confirma, ya que remarca la contraposición entre los resultados obtenidos por C. Clementi, quien no identifica ningún producto de degradación, y los ensayos realizados por Ahn y Obendorf [Ahn t Obendorf, 2000], que indica la posible presencia de ácido ftálico, anhídrido ftálico y ácido benzoico como posibles productos de degradación.

2.3.2. Amarillo de azafrán

Durante el proceso de envejecimiento se detectó que la tonalidad amarilla originalmente intensa y brillante del amarillo de azafrán empalidecía rápidamente, llegando a desaparecer en un breve espacio de tiempo (Figuras 2.5 y 2.6).

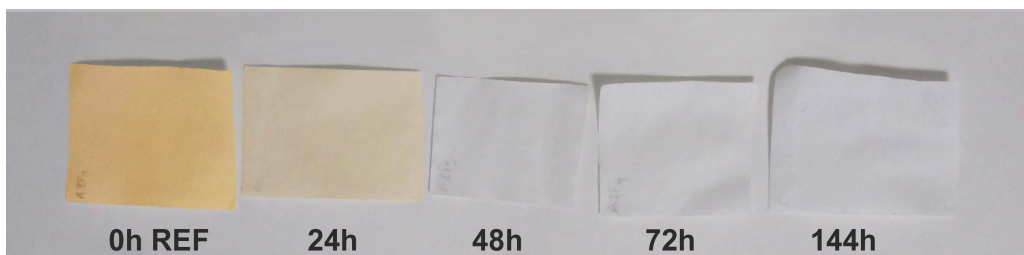


Figura 2.5: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de amarillo de azafrán.

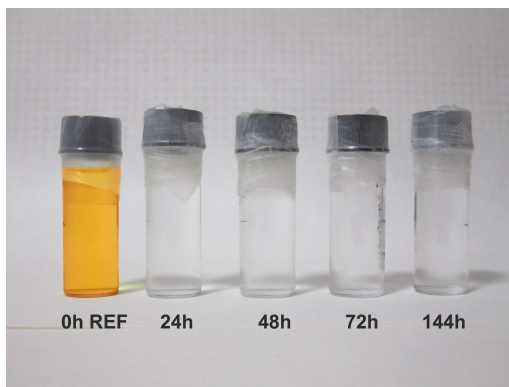


Figura 2.6: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de amarillo de azafrán.

Como se puede comprobar en el cromatograma (Figura 2.7), el pico cromatográfico característico de la muestra sin envejecer, que aparece con (t_R : 34,6 min [8A] y correspondiente al crocetín, desapareció ya tras la primera sesión de envejecimiento.

A partir de ese momento, el crocetín no fue identificable por el método cromatográfico empleado, y tampoco se detectó la formación de otro compuesto.

De las muestras del Grupo II se obtuvieron idénticos resultados, ya que las bandas de absorción propias del crocetín (259 y 401 nm) [Blanc y col., 2006] desaparecieron después de la primera sesión de envejecimiento (Figura 2.7).

A partir de las 24h no se registró ninguna banda de absorción en los espectros realizados en las muestras.

Si se compara este comportamiento con otros colorantes también de origen vegetal (como el rojo de Rubia o el amarillo de goma guta), se detecta que la resistencia a la luz del amarillo de azafrán es bastante menor, ya que el resto suelen seguir siendo reconocibles hasta las últimas fases del proceso de envejecimiento acelerado [López-Montes y col., 2006].

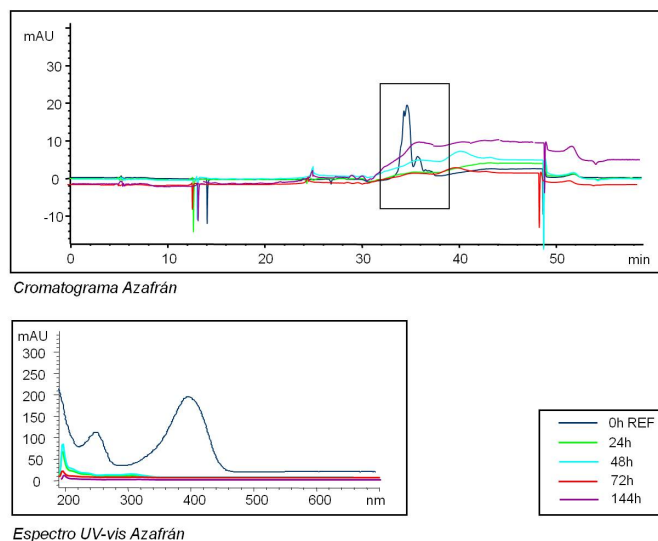


Figura 2.7: Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de amarillo de azafrán.

Los estudios de K. Selim y col. [Selim, Tsimidou y Biliaderis, 2000] sobre la degradación de los carotenoides del azafrán también señala la alta sensibilidad a la oxidación de los carotenoides solubles, como es el crocetín.

2.3.3. Azul de índigo

Durante la optimización de los métodos por HPLC y CE para la identificación de colorantes orgánicos en la Tesis Doctoral en Bellas Artes [López-Montes, 2006], se observó que el azul de índigo presentaba un comportamiento muy particular. La muestra preparada para su análisis variaba en tan solo 24 h. A pesar de las buenas y apropiadas condiciones de conservación de las muestras procesadas, aparecieron, siempre, 2 picos cromatográficos que evolucionaban de manera similar tanto en las gráficas obtenidas por HPLC como por CE.

En las muestras del Grupo I sobre papel, se observó que la tonalidad azulada desapareció rápidamente a partir de la primera sesión de envejecimiento. El colorante en disolución del Grupo II se comportó de manera similar, virando completamente hacia el amarillo en la segunda sesión (24 h), y volviéndose transparente a partir de la tercera sesión de envejecimiento (48 h) (Figuras 2.8 y 2.9).

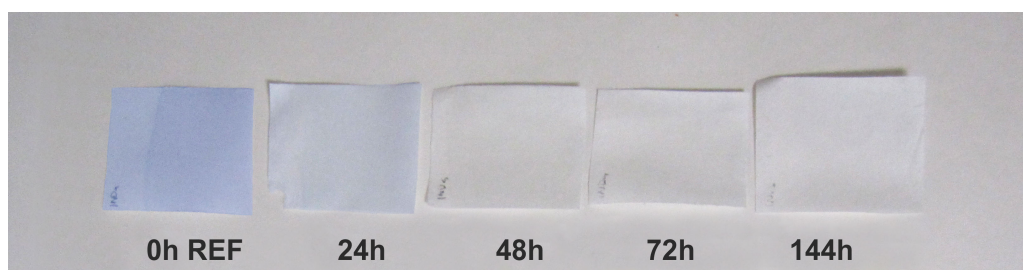


Figura 2.8: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de azul de índigo.

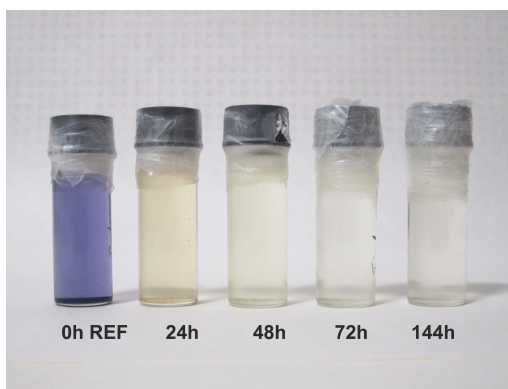


Figura 2.9: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de azul de índigo.

Al analizar las muestras del Grupo I por HPLC, se observó que la señal de índigo era reconocible hasta las 24h de envejecimiento (t_R : 34,777 min) [Blanc y col., 2006].

Durante las 24h de envejecimiento, apareció un segundo pico cromatográfico (a) con t_R : 24,665 min que fue desapareciendo, a la vez que la señal de índigo, a partir de las 72h de envejecimiento (Figura 2.10).

En el Grupo II, la muestra de referencia de azul de índigo en disolución sin envejecer presentaba bandas de absorción características a 286, 348 y 623nm [Blanc y col., 2006].

Las muestras envejecidas se volvieron de color amarillo pasadas 24 h, y sus espectros de absorbancia presentaron tres nuevas bandas de absorción a 250, 307 y 380 nm, perdiéndose las banda a 348 y 623 nm (Figura 2.10).

Las muestras que se mantuvieron en condiciones estables de humedad y temperatura, y protegidas de las radiaciones luminosas (muestras REF), también presentaron el mismo comportamiento tanto en el estudio por HPLC como por espectrofotometría, aunque de manera más pausada que las muestras envejecidas artificialmente, cuyas variaciones fueron más rápidas y acentuadas. Este resultado llevó a pensar que esta transformación no se debía a la exposición a temperatura, iluminación y humedad relativa elevados, sino que simplemente estos fueron parámetros aceleradores de las reacciones de degradación.

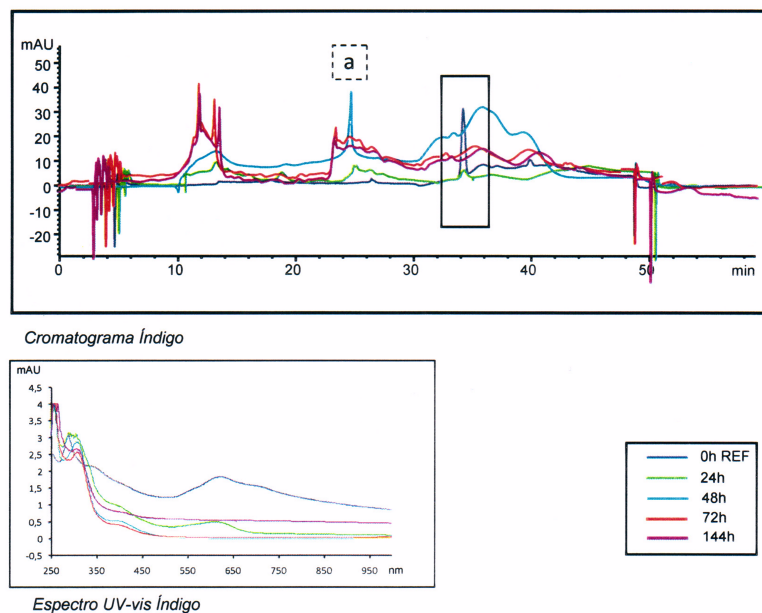


Figura 2.10: Cromatogramas y Espectro UV-vis de azul de índigo.

La consulta bibliográfica sobre la alteración de la molécula de índigo, indicó que esta molécula se transforma, por oxidación, en dehidroíndigo [Rondao y col. 2010]. Estas dos moléculas son semejantes, con idéntico color y espectro de absorción, pero con la particularidad de que la molécula de dehidroíndigo es fluorescente.

Se deduce, por tanto, que el cromatograma obtenido de la muestra inicial a 0h se correspondía posiblemente con las moléculas de índigo. La formación de la molécula de dehidroíndigo fue evidente en las muestras envejecidas durante 24 y 72 h. A partir de ese momento la molécula de dehidroíndigo también pudo alterarse. En el estudio por espectrofotometría, se observó la existencia de una nueva molécula que podría ser la de dehidroíndigo y la forma ceto existente en menor extensión, ya que las bandas de absorción coincidieron a 348 y 600 nm (compuesto de tonalidad idéntica al índigo pero fluorescente), como indican Rondao y col. [Rondao y col., 2010].

2.3.4. Rojo de carmín

En la figura 2.11 se puede observar la apariencia de las muestras del grupo I, y en la figura 2.12 las muestras del grupo II después de la secuencia de envejecimiento. La tonalidad roja sobre papel fue apreciable hasta las 48 h, haciéndose muy tenue, aunque presente, en los dos últimos tramos de envejecimiento. La disolución coloreada se volvió bastante transparente, con tendencia al rosa a las 24 h, y al amarillo a partir de las 48 h, llegando en estas condiciones hasta el final del proceso.

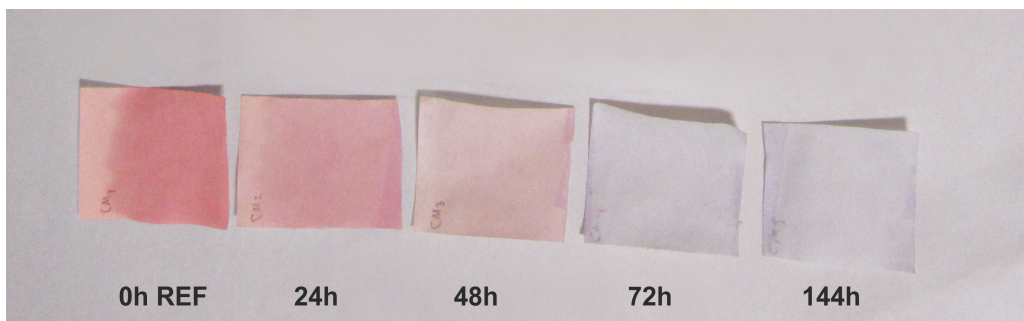


Figura 2.11: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de rojo de carmín.

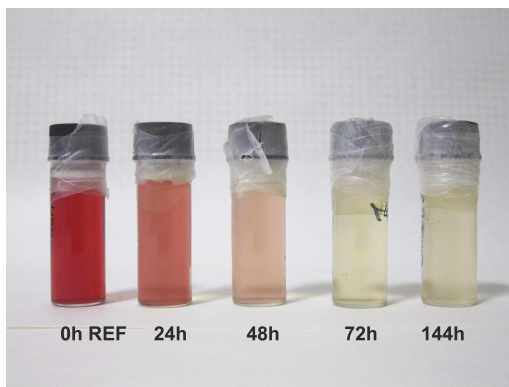


Figura 2.12: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de rojo de carmín.

En la valoración de los resultados mediante HPLC de las muestras del Grupo I (Figura 2.13), observamos que el cromatograma de la muestra de referencia (0h, sin envejecer) presenta un pico cromatográfico que corresponde al ácido carmínico, con (t_R : 14,448 min [Blanc y col., 2006]. Tras la primera sesión de envejecimiento (24 h), ese pico cromatográfico se adelantó 2 min y apareció un nuevo pico (a) con t_R : 23,776 min.

Después de la segunda sesión de envejecimiento (48 h), el pico correspondiente al ácido carmínico se mantuvo, y aumentó el área y altura de la nueva señal que apareció a los 23,776 min, lo que confirmaría la aparición de un nuevo compuesto.

A partir de ese tramo de envejecimiento y hasta el final se sigue observando claramente el pico correspondiente al ácido carmínico y el del segundo nuevo compuesto.

Por lo tanto, el cromatograma conserva el pico cromatográfico correspondiente al ácido carmínico hasta el final del proceso de envejecimiento, junto con otro compuesto señalados a partir de las 24 h de exposición. Este compuesto no ha podido ser caracterizado con el instrumental disponible ni contrastado con los resultados obtenidos por otros autores (hasta ahora las investigaciones realizadas sobre el envejecimiento de este colorante señalan la aparición de nuevos compuestos pero sin caracterizarlos).

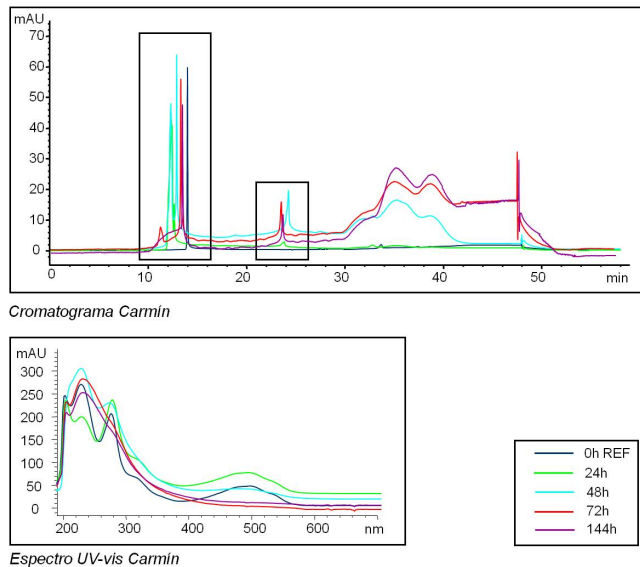


Figura 2.13: Cromatogramas y espectros UV-vis de la serie envejecida de rojo de carmín.

En la valoración de los resultados por espectrometría UV-vis de las muestras del Grupo II (Figura 2.13), se observó que el espectro se fue modificando a cada paso, suavizándose la línea y desapareciendo la curva cercana a longitudes de onda propias del rojo (cercanas a los 500 nm) a partir de las 48 h de exposición.

El espectro de absorción de la muestra inicial de referencia a 0h presentó bandas de absorción a 206, 234, 284, 334, 521 y 563 nm, propias de rojo de carmín [Blanc y col., 2006].

Tras el primer envejecimiento de 24 h, el espectro fue similar, disminuyendo la intensidad de las 2 primeras bandas, aumentando la intensidad de la tercera, y suavizándose las dos bandas de absorción cercanas a los 550 nm. Las longitudes de onda de los máximos de las bandas de absorción son idénticas a las de la muestra de referencia (0 h) por lo que no se señaló la presencia de ningún compuesto nuevo. No hay ninguna señal de absorción que pueda corresponderse con el nuevo pico

cromatográfico que se empezó a identificar a 24h en las muestras del Grupo I. Quizá se debió a que la concentración del nuevo compuesto era inferior al límite de detección del espectrofotómetro empleado.

A partir de las 48 h, las dos primeras bandas se unieron, presentado un máximo de absorción a 234 nm, la tercera banda se mantuvo y desaparecieron las dos bandas de absorción detectada en la franja de los 550 nm, lo que indicó que la tonalidad roja se había perdido por completo como ya se señaló con el análisis visual de las muestras.

Desde las 72 h de envejecimiento y hasta el final del proceso apareció una única banda de absorción muy ancha entre los 210 y los 320 nm, desapareciendo el resto de las bandas indicadas en los tramos anteriores. El espectro de absorción de rojo carmín se modificó por completo aunque no se detectó ninguna banda de absorción que pudiera corresponder con el segundo compuesto detectado en la evaluación por HPLC.

Según los estudios de envejecimiento de F. Gosetti y col. [Gosetti y col., 2015], el colorante procedente de la cochinilla es generalmente mucho más foto-estable cuando está aplicado sobre un soporte que cuando está en disolución acuosa, conclusión que coincide con los resultados obtenidos en este estudio. La formación de los productos de degradación depende de la matriz en la que se encuentre, pero hasta ahora ningún autor ha podido identificarlos con certeza, simplemente se ha constatado la presencia de nuevos elementos como se ha señalado también durante este estudio.

2.3.5. Amarillo de goma guta

El color amarillo intenso obtenido de la resina de goma guta fue bastante resistente durante todo el proceso de envejecimiento, tanto en las muestras del Grupo I como del Grupo II, como se puede observar en las figuras 2.14 y 2.15. La tonalidad amarilla permaneció hasta el final del ensayo de envejecimiento a 144 h.

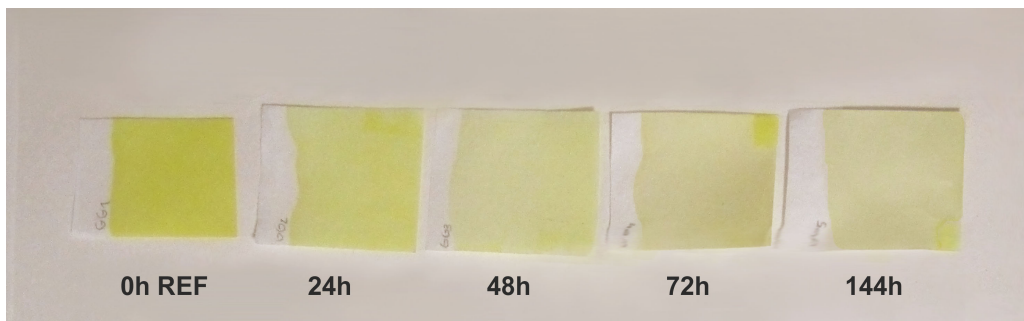


Figura 2.14: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo I de amarillo de goma guta.

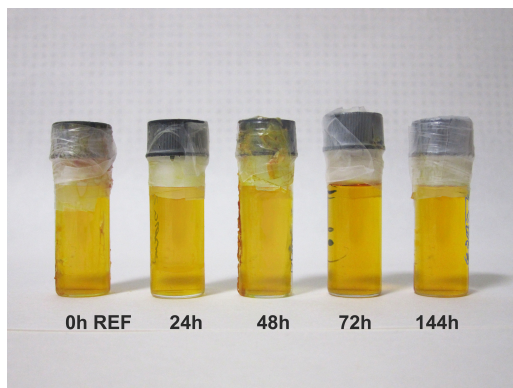


Figura 2.15: Secuencia de muestras envejecidas del Grupo II de amarillo de goma guta.

A pesar de que la tonalidad propia de este colorante permaneció bastante inalterable, los resultados obtenidos por el estudio cromatográfico y espectrofotométrico no revelaron que esta estabilidad fuese tan acusada (Figura 2.16). Se observaron alteraciones del ácido gamboico y aparición de bastantes interferentes.

Los tres picos cromatográficos característicos de este colorante, con t_R : 40,130, 41,830 y 42,378 min [Blanc y col., 2006], se mantuvieron hasta las 48h de envejecimiento. A este tiempo también aparece bastante bien reconocible un nuevo compuesto (a) con t_R : 24,010 min.

A partir de la muestra envejecida a 72 h, las señales características del amarillo de goma guta se enmarañaron con multitud de picos solapados dando lugar a una “montaña” entre el min 31 y el min 46. El pico obtenido a las 24,010 min se hizo más evidente al igual que otro nuevo compuesto (b) con t_R : 13,899 min.

En el tramo final del proceso, estos dos picos de los nuevos compuestos ganaron en altura y área, y el deterioro de los picos característicos de este amarillo siguió en aumento.

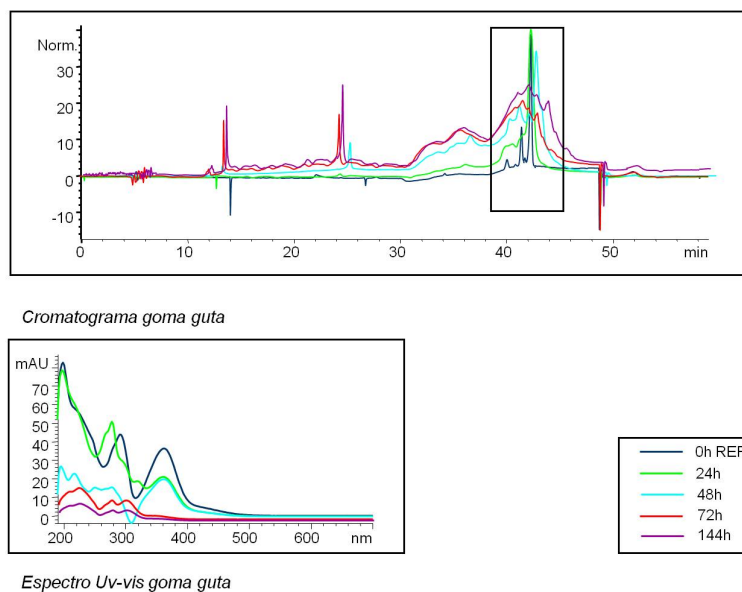


Figura 2.16: Cromatograma y Espectro UV-vis de amarillo de goma guta.

En este caso los resultados no se pueden contrastar con estudios previos debido a la escasez de bibliografía referente a este compuesto colorante y su empleo en patrimonio.

En los espectros UV-vis realizados a las muestras del Grupo II (Figura 16) se observó el mismo comportamiento que en las muestras analizadas por cromatografía del Grupo I.

La muestra de referencia presentó 3 máximos de absorción a 205, 290 y 364 nm [8A]. Esta última banda se corresponde con la absorción de las tonalidades amarillas.

La muestra a 24 h resistió bastante bien las condiciones a las que estaba expuesta, aunque la segunda banda se desplazó hacia la izquierda 10 nm. Aun así, el espectro era perfectamente reconocible.

A las 48 h, las dos primeras bandas de absorción desaparecieron permaneciendo la tercera a 364 nm, siendo la principal y más característica de este colorante, por lo que también podría identificarse gracias a la permanencia de la tonalidad amarilla.

Finalmente, a partir de las 72 h y hasta el final del proceso, las líneas de absorción desaparecen indicando la alteración completa del compuesto amarillo.

2.4. Conclusiones

En este capítulo se ha observado el efecto del envejecimiento acelerado gracias al control de tres parámetros: exposición a la luz, humedad relativa y temperatura. La combinación de los parámetros en condiciones elevadas permite simular la acción del paso del tiempo de manera acelerada, en los materiales estudiados.

La combinación de las técnicas de análisis empleadas para la evaluación de las alteraciones (espectrofotometría UV-vis y cromatografía líquida de alta resolución) ha permitido cumplir el objetivo del trabajo, además de que han demostrado ser lo suficientemente selectivas y sensibles.

Se ha confirmado que estos materiales sí son sensibles a la exposición de estos parámetros, observándose cambios físicos y químicos como consecuencia de las alteraciones, describiéndose con detalle durante la discusión de los resultados.

El rojo procedente de la raíz de *Rubia tinctorum* ha sido el colorante más estable al proceso de envejecimiento de entre todos los estudiados. Los picos cromatográficos y las bandas de absorción para su identificación han ido reduciéndose en intensidad durante el proceso de envejecimiento hasta perderse por completo en las muestras sobre papel durante el último tramo de envejecimiento (144h).

El amarillo de azafrán fue indetectable a partir del primer tramo de envejecimiento (24h), tanto por cromatografía líquida como por espectrofotometría.

No se ha manifestado ningún nuevo compuesto durante el proceso completo de envejecimiento.

Los colorantes azul de índigo, rojo carmín y amarillo de goma guta, además de alterarse, han dado lugar a la formación de nuevos compuestos. Estos nuevos compuestos no han podido ser caracterizados en este trabajo, pero abren una nueva vía de investigación que se desarrollará apoyada en este estudio preliminar y en la bibliografía consultada.

Las alteraciones de estos colorantes implica la imposibilidad de identificación en muchas ocasiones si no han estado conservados en las mejores condiciones de conservación. Esto implica que la “no identificación” de estos materiales en una obra de cierta antigüedad no supone su “no uso”. Por lo tanto, no se podrá afirmar, de manera categórica, su ausencia. Afortunadamente, en algunos documentos gráficos las cubiertas han colaborado en la protección de los materiales, lo que ha permitido la conservación e identificación de estos colorantes orgánicos naturales.

La buena conservación de estos materiales evita, de manera realmente considerable, el desencadenamiento de estas alteraciones. Así se ha podido identificar rojo carmín, amarillo de goma guta y amarillo de azafrán en la colección de dibujos y planos fechada entre el s. XVI y el s. XIX del Archivo de la Real Chancillería de Granada [López-Montes y col., 2008], índigo en la colección de libros árabes anteriores al s. XVI de la Abadía del Sacromonte en Granada (España) [Espejo y col., 2008] y en el hilo empleado en la encuadernación original de un manuscrito medieval fechado a finales del s. XIV [Durán y col., 2012], entre otros ejemplos.

Por otra parte, conociendo estas alteraciones de los materiales, es posible identificar los colorantes estudiados a pesar de las alteraciones que el paso del tiempo haya podido ocasionar.

Con este nuevo conocimiento, además de poder identificar los colorantes a pesar de encontrarse alterados, se puede establecer el estado de conservación en el que se encuentran y si el proceso de alteración ha comenzado. Como ejemplo se ha rescatado el cromatograma obtenido de la muestra del mapa n^o 11 de la colección de dibujos y planos del Archivo de la Real Chancillería de Granada⁵, en

⁵El estudio completo de los colorantes de esta colección se recogió en la Tesis Doctoral Importancia de la identificación de los componentes del color para la conservación y restauración del documento gráfico. Nuevas metodologías de análisis, Tesis Doctoral, Universidad de Granada (2006) y se publicó parcialmente en Blanc, R., Espejo, T., López-Montes, A., Torres, A., Crovetto, G., Navalón, A., Vilchez, J.L. Sampling and identification of natural dyes in historical maps and drawings by liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatography A* 1122

el que se han marcado los tres picos cromatográficos identificativos del amarillo de goma guta, y se detecta la aparición del primer compuesto de alteración (a) (Figura 2.17).

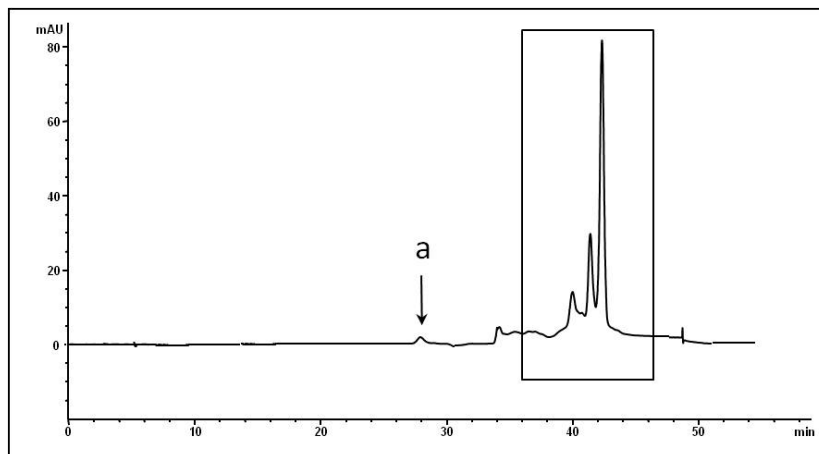


Figura 2.17: Muestra amarilla del mapa 11 del la colección Dibujos, mapas y planos del Archivo de la Real Chancillería de Granada (España).

Las alteraciones identificadas en los colorantes son irreversibles, ya que se producen cambios en la estructura química de las moléculas, por lo que debe prestarse especial atención a sus condiciones de conservación para ralentizar los cambios que se puedan liberar.

El estudio de la evolución de degradación de los colorantes y su caracterización en todas las etapas hace posible que una completa interpretación de los análisis sistemáticos de identificación de materiales previos a las intervenciones de restauración aporten, además, información sobre el estado de deterioro de la obra. Esta información se considera esencial para mejorar el trabajo de los restauradores y conservadores del patrimonio cultural.

(2006) 105-113, y en López-Montes, A., Blanc, R., Espejo, T., Vilchez, J.L. "Analyses of dyes in the map collection of the Real Chancillería of Granada", *Art Technological Source Research* 2, London (2008) 127-135.

Capítulo 3

Identificación simultánea de colorantes rojos naturales y goma arábica en pergaminos manuscritos mediante Electroforesis Capilar

RESUMEN

En este capítulo se presenta el desarrollo de una nueva y simple metodología para la identificación simultánea de los colorantes rojos naturales más usuales en manuscritos y goma arábica como aglutinante, empleados durante la manufactura de documentos históricos.

Usando electroforesis capilar con detector de diodos en línea es posible identificar los 3 monosacáridos (L-arabinosa, D-galactosa y L-ramnosa) y el ácido D-glucurónico que componen la goma arábica además de los componentes principales de los rojos seleccionados: ácido carmínico procedente de la cochinilla americana, alizarín y purpurín de la raíz de *Rubia tinctorum* y brazilina y brazileina de la madera de Brasil.

La metodología fue aplicada a la colección de pergaminos manuscritos conservados en el Archivo de la Real Chancillería de Granada (España).

La identificación simultánea de colorantes y gomas permite reducir considerablemente el número de muestras necesarias para estudiar los materiales presentes en documentos gráficos. La información obtenida facilita la contextualización histórica; ayuda a comprender mejor el proceso de manufactura y es el punto de partida para hacer comparaciones con otros documentos similares.

ABSTRACT

This chapter presents the development of a new simple methodology to simultaneously identify the most usual natural red dyes and gum Arabic employed during the manufacture of ancient graphic documents.

Using capillary electrophoresis with diode array detection it is possible to identify D-glucuronic acid and the three monosaccharides (L- arabinose, D-galactose and L-rhamnose) , which compose gum arabic as well as the principal components of the red dyes: carminic acid from American cochineal, alizarin and purpurin from *Rubia tinctorum* root and brazilin and brazilin from brazilwood.

The methodology was applied on the collection of manuscript parchments from the Archive of Royal Chancellery of Granada (Spain).

The simultaneous identification of dyes and gums allowed to considerably reduce the number of samples needed to study the materials used in graphic documents. The analyses facilitate historical contextualization. They also help to better understand the manufacture process and serve as a starting point to draw comparisons with other similar documents.

RÉSUMÉ

Dans ce chapitre nous présentons le développement d'une nouvelle méthodologie simple pour l'identification simultanée des colorants rouges naturels le plus souvent utilisés dans les manuscrits, ainsi que de la gomme arabique utilisée comme liant, employés pour la manufacture des documents graphiques anciens.

L'électrophorèse capillaire a permis d'identifier l'acide D-glucuronique et les 3 monosaccharides (L-arabinose, D-galactose et L-rhamnose) composant la gomme arabique, ainsi que les principales composés des colorants rouges sélectionnés :

acide carminique de la cochenille, alizarine et purpurine de la racine de garance – *Rubia tinctorum* -, et braziline et brazileine du bois du Brésil.

La méthodologie a été employée sur la collection de parchemins manuscrits conservés dans les archives de la Chancellerie Royale de Grenade (Espagne).

L'identification simultanée des colorants et des gommages permet de réduire remarquablement le nombre d'échantillons pour l'étude des matériaux présents dans les documents graphiques. L'information obtenue facilite la contextualisation historique et aide à mieux comprendre les procédés de fabrication. C'est le point de départ pour mettre en relation d'autres documents graphiques similaires.

3.1. Introducción

La identificación de los materiales en documentos gráficos ha sido, y es, objeto de multitud de trabajos de investigación. La principal limitación se encuentra en la disponibilidad de muestras procedentes del patrimonio cultural para su manipulación y estudio. Especialmente crítico es este punto para el estudio, identificación y caracterización de capas pictóricas y gráficas en documentos de archivo si lo comparamos con otro grupo de obras como pintura mural o escultura policromada, porque la cantidad de muestra disponible es ínfima.

Por otra parte, debido a la diferente naturaleza química de los materiales empleados en la decoración y escritura de los documentos, para la identificación de sus elementos principales (materia colorante, aglutinante y aditivos), es inevitable realizar, al menos, un análisis por grupo de materiales. Así pues, se duplica o triplica el muestreo en cada documento haciéndose una práctica poco entendida por los custodios de estas obras, tediosa para los científicos, poco económica para los laboratorios y dañina para los bienes culturales.

Para mejorar esta situación y gracias a los conocimientos y experiencia adquirida en los años previos, se planteó el desarrollo de una metodología analítica para lograr la identificación simultánea de colorantes y aglutinantes. Con una sola muestra se podría obtener información relevante para la identificación y caracterización del colorante y el aglutinante empleado en una decoración o escritura realizando un solo análisis.

Después de la revisión bibliográfica, se encontró un único trabajo en el que se abordaba la identificación simultánea de materiales de distinta naturaleza. Doménech Carbó y col. en 2007 publicaron un trabajo sobre la identificación simultánea de pigmentos de plomo y aglutinantes usando voltamperometría de micropartículas [Doménech y col., 2007]. Además de la problemática anteriormente mencionada, ellos destacaron la complejidad causada por los componentes interferentes que aparecen por las interacciones entre los materiales de las capas pictóricas. Vandelenabeele y col. publicaron un trabajo en el año 2000, donde durante la aplicación de la metodología desarrollada para la identificación de aglutinantes y barnices por espectroscopía micro-Raman, descubrieron la presencia de un pigmento o colorante junto con el aglutinante en un libro de Horas medieval, aunque no llegaron a caracterizarlo por carecer de los datos suficientes [Vandelenabeele y col., 2000]. Por lo tanto, hasta ahora, lo habitual es la combinación de varias técnicas para

la identificación, sobre una misma obra, de pigmentos/colorantes y aglutinantes con muestras diferentes, como realizó Kuckova y col. [Kuckova y col., 2005], emplearon microespectroscopía de infrarrojos y desorción/ionización láser asistida por matriz con detector de iones y detector de masas (MALDI-TOF-MS), o Edwards y col. [Edwards, Newton y Russ., 2000] empleando espectroscopía Raman, microscopía electrónica de barrido (SEM) y análisis de energía dispersiva de rayos X (EDAX).

Para iniciar esta línea de identificación simultánea se comenzó por la selección de los colorantes rojos más habituales en documento gráfico: rojo de cochinilla, rojo de Rubia y rojo de madera de Brasil, y el aglutinante por excelencia de las técnicas de escritura y decoración acuosas¹ de documentos gráficos en papel o pergamino: la goma arábiga.

La información acerca del origen, uso y composición de estos colorantes se recoge en el apartado 1.4 de la introducción.

Este aglutinante es un hidrocoloide que se extrae de la Acacia senegal procedente, especialmente, de África. Está compuesta de una mezcla de polisacáridos (arabinogalactanos muy ramificados con unidades finales de ramnosa y ácido glucurónico), y otros compuestos proteínicos [Größl y col., 2005], por lo cual contiene principalmente ácido D-glucurónico, L-ramnosa, L-arabinosa y D-galactosa [Picton, Bataille y Muller, 2000] (Figura 3.1).

¹La acuarela se caracteriza por crear capas de color de gran transparencia realizada con pigmentos y colorantes aglutinados con goma arábiga junto otros aditivos como azúcares y humectantes naturales (hiel de buey) o sintéticos [Knut, 1998]. El gouache es una técnica similar pero con la que se consigue capas de color opacas y cubrientes compuestas por un pigmento o colorante y un aglutinante que también suele ser la goma arábiga, junto con cargas blancas como blanco de planta, de zinc, de plomo o de yeso para darle mayor pastosidad y opacidad [Bello y Borrell, 2002].

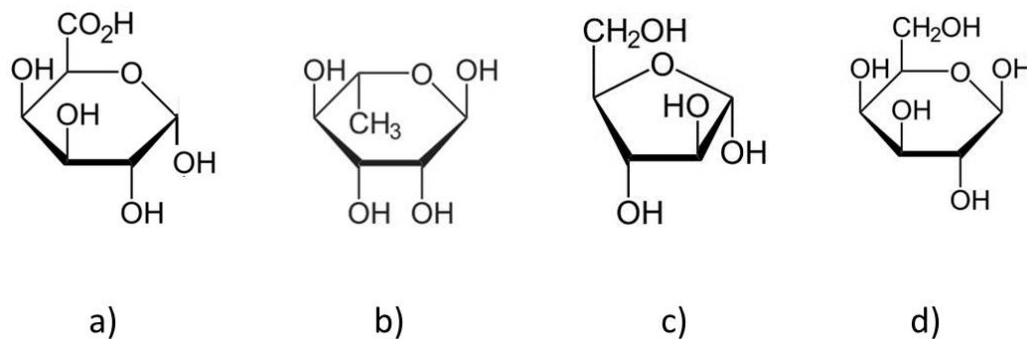


Figura 3.1: a) ácido D-glucurónico; b) L- ramosa; c) L-arabinosa; d) D-galactosa.

La técnica más habitual para la identificación de estos compuestos ha sido la cromatografía líquida o de gases con distintos sistemas de detección [Gröbl y col., 2005]. También se encuentra bastante bibliografía sobre la identificación de la goma arábiga por electroforesis capilar [Rovio, 2008] [Bazzarella, 1998] [Gröbl y col., 2005], acoplada a un detector de fluorescencia, de diodos e incluso la detección electroquímica. Aunque en ninguno de estos casos la aplicación era sobre muestras procedentes de documentos gráficos ni se realizaba simultáneamente la identificación de otros compuestos que acompañan a la goma en capas pictóricas.

La aplicación de este estudio se ha realizado sobre la Colección de pergaminos del Archivo de la Real Chancillería de Granada. Se trata de una colección de documentos manuscritos en pergamino fechados entre 1344 y 1758. La colección se formó por la transferencia de pergaminos procedentes de las Cancillerías Reales de España, Francia y Gran Bretaña, la Chancillería de Granada, la Audiencia de Sevilla y Valencia, Reyes de armas, Concejos, Notariado, Cancillería Pontificia y otras secretarías eclesiásticas, Cabildo de la Iglesia Catedral y el Obispado de Córdoba, Órdenes regulares y congregaciones religiosas (Compañía de Jesús y Orden de la Santísima Trinidad), la Orden Militar de Santiago, Cofradías y las Universidades de Granada y Salamanca.

Están escritos en castellano, francés, inglés y latín con escritura gótica documental o cursiva: gótica textual, minúscula diplomática, cortesana, procesal y

humanística. Presentan contenido variado en función de sus diferentes productores, predominando los de temas genealógicos. Son originales salvo algunos traslados notariales y testimonios de autos. Su tipología diplomática es diversa [Mártir, 2009].

El estado de conservación predominante es bueno. Las únicas deficiencias que presentan un grupo minoritario de documentos son tintas desvaídas o perforaciones mínimas. Los documentos más deteriorados se restauraron con anterioridad. Se encuentran conservados en un mueble planero agrupados en carpetas según el tamaño y protegidos en su interior con papel japonés y poliéster de 75 μm de espesor.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Materiales, reactivos y disolventes

Los colorantes naturales empleados fueron obtenidos de diferentes fuentes: el rojo de carmín fue extraído del insecto *Coccus cacti*, el rojo de Rubia de la raíz de la planta *Rubia tinctorum*, el rojo de madera de Brasil de la planta *Caesalpinia sappan* L., y la goma arábica de la resina de la planta *Acacia Senegal*. Todas estas fuentes naturales fueron suministradas por Kremer-Pigmente (Cracovia, Polonia).

Los patrones de los principales componentes de los colorantes fueron suministrados por las siguientes casas comerciales: ácido carmínico (del rojo de carmín) por Merck (Darmstadt, Alemania), alizarín y purpurín (del rojo de Rubia) por Fluka Chemie (Buchs, Alemania) y brasilina y brazileína por M.P. Biomedicals (California, EE.UU.).

El papel sobre el que se preparó una muestra de tinta roja en el laboratorio fue de fibra de algodón sin encolantes ni aglutinantes suministrado por el molino papelerero de Capellades (España).

Los patrones de L-arabinosa, L-ramnosa, D-galactosa y ácido D-glucurónico fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).

Los reactivos ácido 2,6-piridincarboxílico (PDC) y bromuro de cetilmetilamonio (CTAB) fueron obtenidos de Sigma-Aldrich Chemie (Steinheim, Alemania). El fosfato trisódico anhidro fue suministrado por Probus (Barcelona, España), borato sódico por Riedel-deHaën (Esebre, Alemania) el ácido trifluoroacético (TFA), sulfato de cobre (CuSO_4) y fosfato sódico dibásico (Na_2HPO_4) e hidróxido sódico.

co (NaOH) fueron suministrado por Panreac (Barcelona, España) y trihidruro de nitrógeno (disolución de NH_3 al 28-30 %) y el ácido clorhídrico (HCl) por Merck (Darmstadt, Alemania).

El agua empleada, en todos los casos, fue purificada mediante el sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, USA). Los disolventes acetonitrilo y metanol fueron suministrados por Fluka Chemie (Buchs, Suiza), etanol por Alcoholes del Sur (Córdoba, España), 1-propanol y ácido sulfúrico (98 % pureza) por Panreac (Barcelona, España).

Todos los disolventes y disoluciones de los reactivos fueron filtrados a través del sistema Milli-Q plus (Millipore, Bedford, MA, USA). Los filtros para la preparación de las muestras fueron de celulosa regenerada de 0,2 μm de tamaño de poro (Minisart Sartorius Steidem Biotech, Goettingen, Alemania).

3.2.2. Instrumentación y programas informáticos

El equipo de electroforesis capilar fue HP^{3D} CE instrument (Agilent Technologies, Waldbron, Alemania) equipado con un detector de diodos en línea, un módulo de termostatación del capilar y muestreador automático.

La optimización de las separaciones se llevó a cabo en dos capilares: el primero fue un capilar recubierto de sílice fundida, de Agilent (Alemania), de 36 cm x 50 μm d.i., con distancia efectiva hasta el detector de 28 cm; el segundo presentaba características similares pero de 36 cm de longitud y 20 μm d.i., con distancia efectiva hasta el detector de 28 cm.

Para la adquisición y subsecuente procesado de los electroferogramas se empleó el programa HP ChemStation.

Para realizar los espectros de absorbancia de los colorantes se ha utilizado un espectrofotómetro Agilent 8453E (Waldbronn, Alemania) realizando el tratamiento de datos con el programa Chemstation.

Las medidas de pH fueron realizadas con un pH-metro CRISON Instruments S.A. D501.

3.2.3. Preparación de las muestras

3.2.3.1. Sustancias de referencia

Las sustancias de referencia de los colorantes fueron obtenidas por extracción desde las diferentes fuentes descritas usando los disolventes adecuados.

El rojo de carmín, rojo de Rubia y rojo de madera de Brasil se extrajeron colocando en vasos de precipitado individuales los insectos y las plantas trituradas con agua desionizada a 30 °C durante 15 min. Después las disoluciones coloreadas fueron filtradas con papel de filtro neutro. Seguidamente estas disoluciones fueron evaporadas hasta sequedad con corriente de nitrógeno y los extractos se redisolviéron en el volumen adecuado de agua Milli-Q para conseguir una concentración de 5 g/l.

Los patrones puros de los compuestos de los colorantes se disolvieron en agua en una concentración de 0,5 g/l. Aunque se trabajó con estas sustancias para verificar algunos de los resultados, todo el trabajo de optimización se realizó empleando las sustancias de referencia obtenidas directamente de las fuentes naturales para obtener los mismos compuestos con los que el artista trabajaba en su taller.

Los patrones del ácido y los monosacáridos componentes de la goma arábiga fueron disueltos directamente en agua ultrapura en una concentración 3 mM. Estos patrones se emplearon para dopar las muestras e identificar los picos electroforéticos de la goma arábiga.

Los extractos de los monosacáridos y el ácido que componen la goma arábiga fueron extraídos de esta resina colocando 10 mg de goma arábiga en un vial con 2 ml de TFA 2M manteniéndolo a 110°C durante 1 h y 30 min para realizar el tratamiento de hidrólisis de los polisacáridos. Después, se eliminó el TFA pasando una corriente de nitrógeno. El residuo final fue reconstituido en 200 µl de agua ultrapura.

3.2.3.2. Muestra de laboratorio

Se preparó una muestra simulando una capa de acuarela con cada uno de los colorantes sobre una pieza de papel de algodón sin encolates ni colorantes. El procedimiento para la elaboración de esta tinta fue similar el empleado en el taller de un artista.

El colorante se extrajo de la fuente natural correspondiente colocando los insectos o las sustancias vegetales en un recipiente con agua y calentado suavemente

hasta que la disolución se coloreó. A continuación se extrajeron los restos sólidos usando papel de filtro, y la disolución restante se llevó a sequedad hasta conseguir una pasta coloreada. Esta pasta se aglutinó con goma arábica preparada anteriormente en agua al baño maría. A la pasta se le añadió el aglutinante suficiente para conseguir una capa cubriente y fluida de fácil aplicación con un pincel de celda suave. Se aplicaron varias capas sobre el papel y se dejaron secar durante una semana antes de proceder a su análisis. La concentración del colorante y la goma fue desconocida. Esto no es mayor problema en este caso ya que un artista o escribano realizaba este proceso de manera artesanal y dejándose llevar por la experiencia y el aspecto de las mezclas.

Para la extracción de la muestra se usó un pincel cargado con una disolución acuosa de SDS 0,1 M y se frotó sobre la superficie. La muestra extraída se introdujo en un microvial al que 100 μ l de SDS 0,1 M. Seguidamente la muestra de hidrolizó siguiendo el proceso descrito. Por último se eliminó el TFA con corriente de nitrógeno y se reconstituyó la muestra en 100 μ l de agua ultrapura.

3.2.3.3. Toma y tratamiento de las muestras de pergaminos

Las muestras analizadas de la colección de pergaminos fueron obtenidas siguiendo el método propuesto por Blanc y col. [Blanc y col., 2006], usando un pincel cargado con un disolución acuosa de SDS 0,1 M y aplicándolo directamente sobre la capa de color del pergamino. Esta muestra se introdujo en un microvial al que se añadió 100 μ l de SDS 0,1 M. Ninguna de las muestras se filtró para evitar que parte del colorante se quedase retenido en la membrana.

Después se le aplicó el tratamiento de hidrólisis descrito con anterioridad a todas las muestras, eliminando el TFA con corriente de nitrógeno y reconstituyendo los residuos en 100 μ l de agua ultrapura. Una vez completado el tratamiento, las muestras fueron inyectadas en el capilar para separar e identificar los colorantes orgánicos y la goma.

3.3. Metodología analítica empleada

3.3.1. Espectrofotometría UV-vis

Para obtener los espectros de absorbancia de las muestras de referencia, las disoluciones acuosas de cada una de las sustancias se introdujeron en una cubeta

de cuarzo ajustando las concentraciones en cada caso para no saturar el detector. El estudio de absorción se realizó en un rango comprendido entre 190 y 1100 nm.

3.3.2. Electroforesis capilar

Antes de utilizar el capilar por primera vez este fue acondicionado con NaOH 1 M durante 20 min, seguido de agua desionizada durante 10 min y por último 20 min de la disolución tampón.

El acondicionamiento habitual al inicio de cada sesión de trabajo se realizó a 20°C haciendo pasar NaOH 0,1 M durante 5 min, agua desionizada durante 3 min y la disolución tampón durante 7 min. Con este acondicionamiento se aseguró la reproducibilidad de los electroforegramas y la estabilidad de los tiempos de migración.

Después de cada sesión y antes de guardar el capilar también se realizaron trabajos de acondicionamiento. Se pasó agua desionizada durante 3 min y seguidamente una corriente de aire para secar el capilar.

La disolución tampón estaba compuesta por fosfato trisódico 20 mM, CTAB 0,5 mM y PDC 40mM a pH 12,2 filtrada con una membrana de 0,20 μ m. La separación fue llevada a cabo a -20 kV resultando una corriente de -19 μ A, realizándose a temperatura constante de 20°C. La muestra se inyectó por el ánodo con una presión de 50 mbar durante 10 s. El tiempo de análisis fue de 20 min. La detección se realizó en tres canales a 270, 252 y 335 nm. Para todas las muestras y condiciones se realizaron 3 réplicas instrumentales y 3 experimentales.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Espectrofotometría UV-vis

Previo al desarrollo y optimización del método electroforético se desarrolló el estudio espectrofotométrico de los colorantes para poder caracterizarlos y seleccionar la longitud de onda de absorción adecuada para la detección por PDA según la absorción máxima (máx) de cada analito.

Con los datos obtenidos (tabla 3.1) se llegó a una solución de compromiso y se seleccionó 270 nm como longitud de onda adecuada para la identificación de los componentes de la goma arábiga y rojo de Rubia y, simultáneamente, 335 nm

para la identificación de los componentes de rojo de carmín y rojo de madera de Brasil. [López-Montes, 2006]

Colorantes y goma arábica	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda_{\text{detección}}$ (nm)
Goma arábica	240; 180	270
Rojo de rubia	205; 236; 280; 430	270
Rojo carmín	206; 234; 284; 337; 521; 563	335
Rojo de madera de Brasil	252; 287; 315	335

Tabla 3.1: Longitudes de onda de absorción máxima de los analitos estudiados y longitud de onda optimizada para su identificación.

3.4.2. Optimización del método electroforético

Para la elaboración del método electroforético se han optimizado cada una de las variables experimentales e instrumentales de manera individual, con una muestra compuesta por todos los analitos implicados (los colorantes rojos naturales y la goma arábica).

Para la optimización de dichas variables, además de conocer la solubilidad y el espectro UV-vis, fue necesario recopilar los valores de pKa de cada uno de los compuestos. En la tabla 3.2 se recogen los datos.

Sustancia	pK _a
Ácido carmínico	1,59
Alizarín	6,77
Purpurín	7,05
Brazilina	¿?
Brazileína	¿?
Ramnosa	11,84
Arabinosa	12,43
Galactosa	12,39
Ácido glucurónico	3,2

Tabla 3.2: Valores de pKa de los analitos.

3.4.2.1. Optimización de las variables experimentales

Partiendo de la bibliografía consultada sobre la identificación de monosacáridos en la que se aconseja emplear tampones de pH básico dado el alto valor de pKa de los monosacáridos, y dado que este rango de alcalinidad también sería compatible para la separación de los colorantes rojo, se comenzó ensayando el método propuesto por Rovio y col. [Rovio, 2008] empleando un electrolito formado por NaOH 130 mM y Na₂HPO₄ 36 mM a pH 12,6.

Los resultados no fueron óptimos ya que algunos monosacáridos se solapaban y no se obtenía ninguna señal de los colorantes. El siguiente método ensayado fue el propuesto por Bazzarella y col. [Bazzarella, 1998] con un electrolito compuesto por CuSO₄ 60 mM y NH₃ 500 mM a pH 11,6. En este caso ni los colorantes ni el ácido glucurónico pudieron ser identificados.

Siguiendo con este método, se creó una variante añadiendo borato sódico 40 mM a pH 10,3, combinando la propuesta anterior con la realizada en 2007 por López-Montes y col. para la identificación de colorantes naturales [Bazzarella, 1998], pero los resultados no fueron mejorados.

Por último, y combinando los métodos propuestos por Mazanek [Mazanek, 2006] y Grössl [Grössl y col., 2005], se realizó una disolución electrolítica compuesta por PDC 20 mM (cromóforo), CTAB 0,5 mM (inversor de flujo) y Na₂HPO₄⁻³ 10mM (electrolito soporte) a pH 12,1 en polaridad negativa para invertir la polaridad de la fuente (movilidad del cátodo al ánodo).

Se añadió PDC para conseguir determinar los monosacáridos, ya que no contienen ningún grupo cromóforo, utilizando detección UV-Vis indirecta. En este caso el electrolito absorbe la radiación y los compuestos de interés se determinan por la disminución de absorbancia. El inversor de flujo CTAB se añadió al electrolito soporte para forzar el flujo electroosmótico hacia el ánodo junto con el potencial negativo para el análisis de los aniones.

Con este electrolito se consiguió obtener señal de todos los colorantes (identificación directa) y el aglutinante (identificación indirecta) presentes en la muestra.

Una vez obtenido el electrolito adecuado, se continuó con la optimización de las concentraciones de los reactivos, el pH y el efecto ocasionado por la adición de modificadores orgánicos con el fin de conseguir separar e identificar todos los analitos.

La concentración del electrolito soporte $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{-3}$ se estudió en un rango de concentración comprendido entre 5 y 40 mM, además de compararlo con un electrolito sin este reactivo (0, 5, 10, 20, 30 y 40 mM). Se observó que la adicción de $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{-3}$ era imprescindible para evitar solapamientos, optimizando su concentración en 20 mM, ya que se conseguía mejor separación de los monosacáridos además de mayor señal, similar comportamiento para el pico correspondiente al ácido carmínico, que también aumentaba en área e intensidad (Figura 3.2).

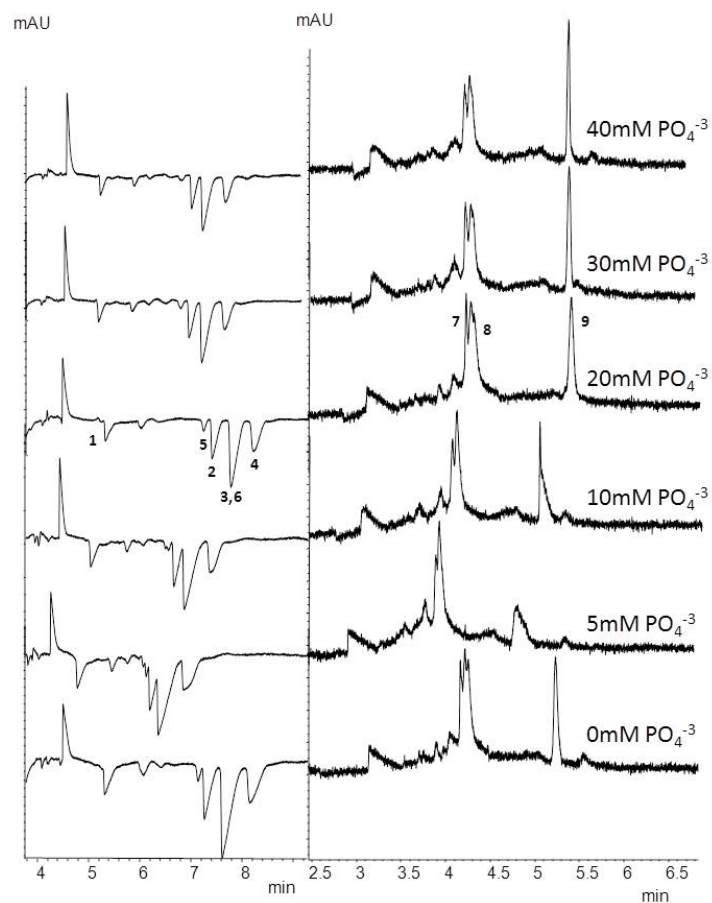


Figura 3.2: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del electrolito soporte HPO_4^{3-} . Tampón PDC 20 mM, CTAB 0,5 mM y PO_4^{3-} ; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

Se estudió en concentraciones de CTAB en concentraciones de 0,5, 1, y 1,5 mM seleccionándose 0,5 mM porque se conseguía mejor separación de los picos electroforéticos y una corriente adecuada de $-56 \mu\text{A}$ al aplicar un voltaje de -10 kV . A partir de 1 mM se detectó un efecto de desdoblamiento de los picos electroforéticos correspondientes a los monosacáridos (Figura 3.3).

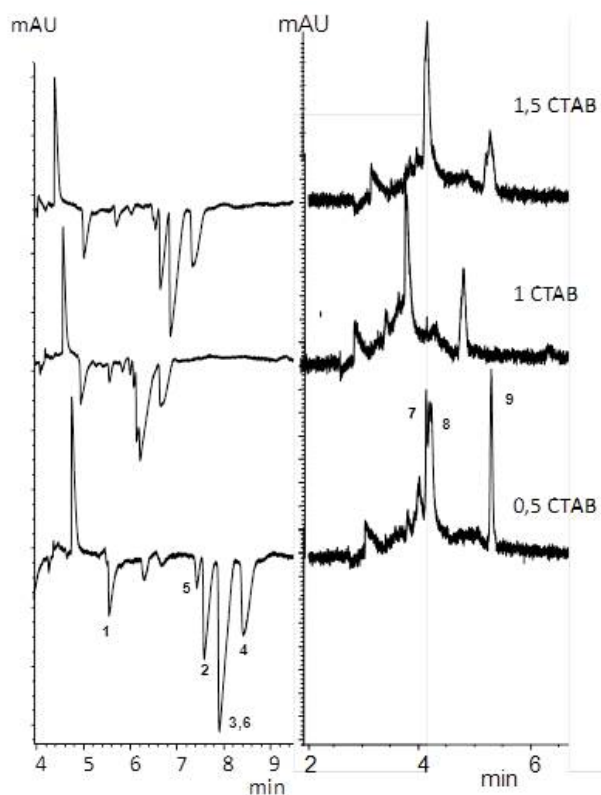


Figura 3.3: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del inversor de flujo CTAB. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB ; pH 12,1; T^a 25 $^{\circ}\text{C}$; -10 kV . Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileína; (9) ácido carmínico.

La concentración del cromóforo PDC se ensayó en el rango comprendido entre 10 y 40 mM (10, 20 30 y 40 mM) (Figura 3.4). Al aumentar la concentración se mejoraba ligeramente la separación de las señales de brazilina y brazileína además de que los picos correspondientes a la goma arábiga y el resto de los componentes de los rojos se estrechaban y aumentaban en intensidad, por lo tanto se seleccionó PDC a 40mM.

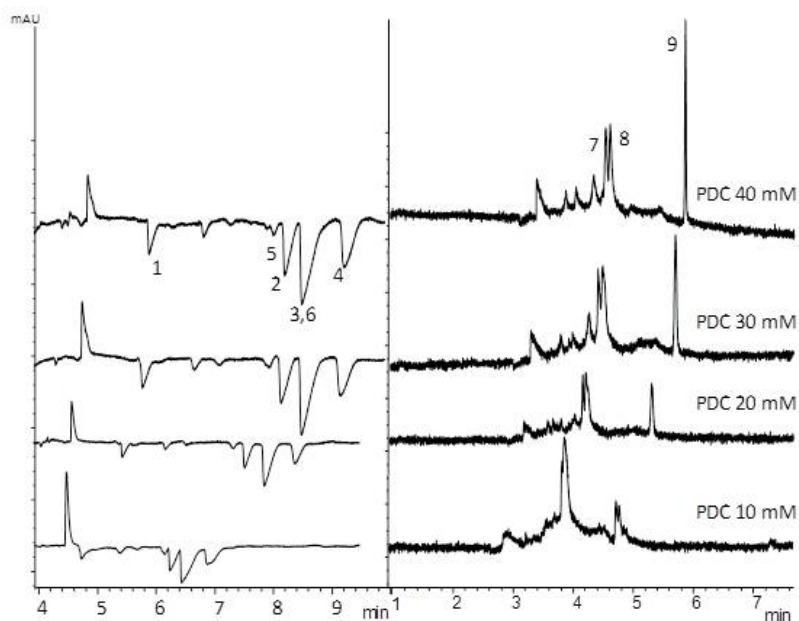


Figura 3.4: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la concentración del cromóforo PDC. Tampón PO_4^{-3} 20 mM, CTAB 0,5 mM y PDC; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileína; (9) ácido carmínico.

El efecto del pH sobre el electrolito compuesto por PDC 40mM, CTAB 0,5 mM y $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{-3}$ 20 mM se estudió, inicialmente, en el rango comprendido entre 9 y 12,7 en pasos de 1 unidad (pH 9, 10, 11, 12 y 12,7) ajustando el pH con HCl 1N ó NaOH 1N.

Se observó que a un pH inferior a 11 no se conseguía la identificación de ninguno de los analitos y que a pH 12,7 algunas de ellos no se detectaban. Así pues se ajustó el rango de estudio del pH entre 11 y 12,5 (Figura 3.5). Los mejores resultados se obtuvieron a pH 12 aunque se consideró trabajar a pH 12,1 porque los resultados eran idénticos y este era el pH propio del electrolito.

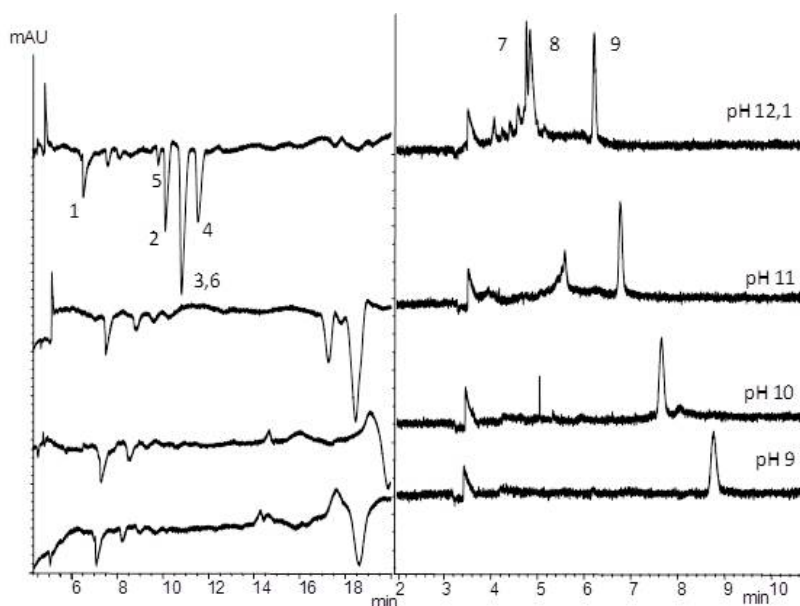


Figura 3.5: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio del pH. Tampón PDC 20 mM, HPO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

A continuación se analizó la influencia de un modificador orgánico al 5 % (v/v) en la composición del electrolito (Figura 3.6) con el fin de mejorar la separación modificando la polaridad y viscosidad del electrolito. Los modificadores orgánicos seleccionados fueron: etanol, 1-propanol, acetonitrilo y metanol. Finalmente se descartó el uso de cualquier modificador orgánico porque retrasaba la migración de los picos electroforéticos sin mejorar la separación o reducían la intensidad de la señal.

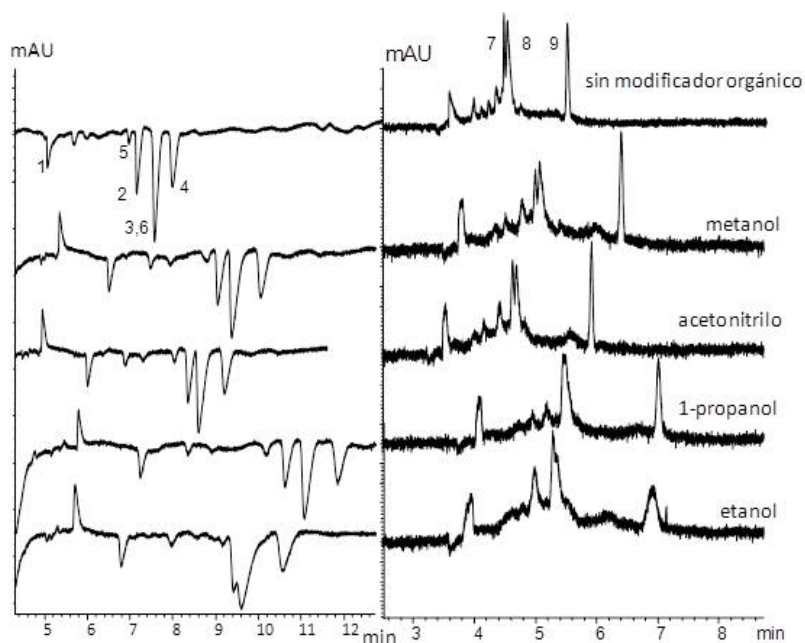


Figura 3.6: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio del modificador orgánico. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 25 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

3.4.2.2. Optimización de las variables instrumentales

Se describe, a continuación, la influencia ejercida por las principales variables instrumentales que afectan a la separación de la mezcla de colorantes estudiados mediante CE: temperatura durante la separación, voltaje aplicado e inyección de la muestra.

La temperatura fue estudiada en el rango comprendido entre 20 y 30 °C (Figura 3.7). Al aumentar la temperatura el tiempo de análisis se reducía pero la resolución de los compuestos empeoraba. Por lo tanto se seleccionó 20 °C por obtenerse los mejores resultados además de trabajar en una temperatura cercana a la temperatura ambiente y facilitar el control de esta.

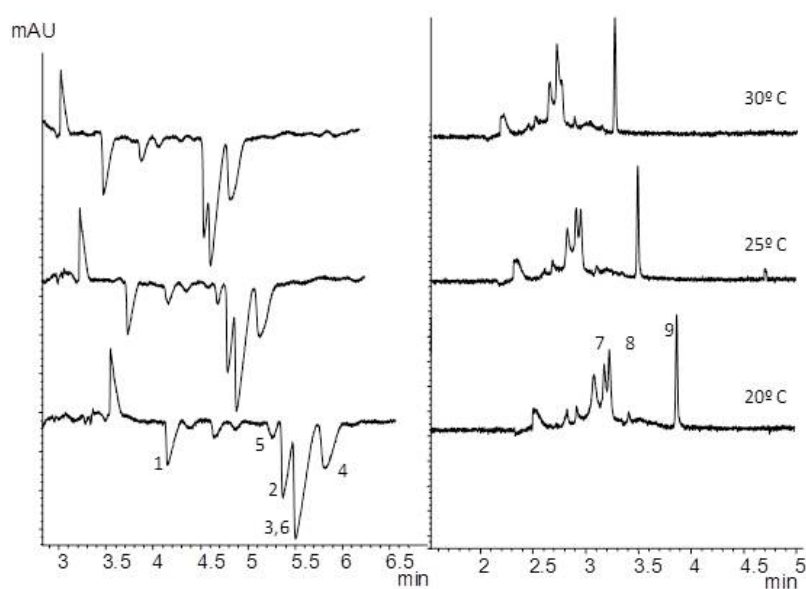


Figura 3.7: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la temperatura. Tampón PDC 20 mM , PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; -10 kV. Izq. 270 nm; drecha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

La aplicación del voltaje fue estudiada en un rango comprendido entre 5 y 15 kV (-5, -7, -10, -12 y -15 kV) en polaridad negativa (Figura 3.8). A -5 kV no se consiguió la identificación de la goma arábica, y el resto de las señales fueron de menor intensidad. Entre -12 y -15 kV los picos de goma arábica y de rojo de Rubia se solapan, por lo que se decidió realizar la separación a -10 kV.

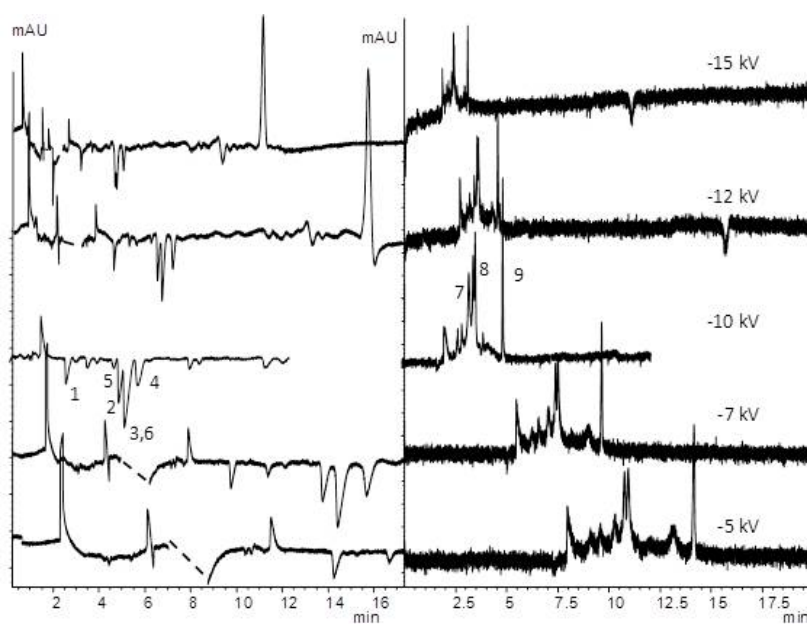


Figura 3.8: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la aplicación de voltaje. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 25 $^{\circ}\text{C}$. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileína; (9) ácido carmínico.

Por último se optimizó las condiciones de inyección de la muestra empleando el modo de inyección hidrodinámica² manteniendo la presión a 50 mbar y modificando los tiempos de inyección entre 1 y 5 segundos en pasos de 1 segundo (Figura 3.9). Tiempos superiores a 4 segundos inyectaba tanta cantidad de muestra que se solapaban algunos picos. Con solo 1 segundo de inyección la cantidad de muestra era insuficiente para su análisis. Respecto a los resultados obtenidos a 2 y 3 segundos se seleccionó 2 segundos porque los picos estaban mejor resueltos a prácticamente iguales condiciones de altura y área respecto a la inyección realizada a 3 segundos.

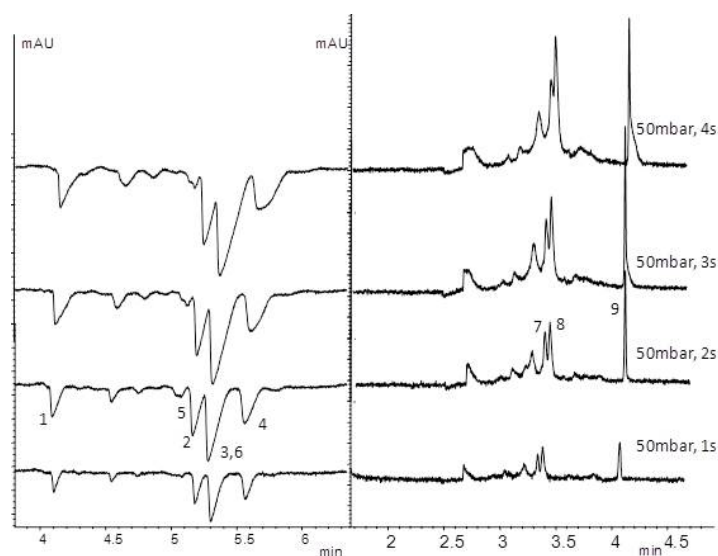


Figura 3.9: Electroferogramas de mezcla patrón para el estudio de la aplicación de la inyección de la muestra. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 20 °C; -10 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

²En este tipo de inyección, la introducción de la muestra se realiza por presión, succión o gravedad. El equipo empleado realiza la introducción de la muestra por presión en el extremo inicial del capilar. Este sistema es menos discriminatorio que la inyección electrocinética.

Después de haber optimizado todos los parámetros, no se consiguió la separación óptima entre los picos correspondientes a la arabinosa (3) (monosacáridos de la goma arábiga) y el compuesto de purpurín (6) correspondientes al rojo de Rubia, por lo que se intentó mejorar esta separación utilizando un capilar de 20 μm diámetro interno, inferior al utilizado hasta este momento.

Todos los parámetros optimizados con anterioridad fueron respetados, a excepción del voltaje aplicado (que debía aumentarse porque la corriente obtenida a $-15 \mu\text{A}$ era demasiado baja al trabajar con el capilar más delgado) y las condiciones de inyección de la muestra. El voltaje se volvió a optimizar entre -20 y -30 kV para conseguir una corriente adecuada, seleccionando -20 kV , ya que a -30 kV la corriente era tan alta que estropeaba el capilar. La inyección hidrodinámica se estudió manteniendo la presión fija a 50 mbar y variando los tiempos de inyección entre 5 y 12 segundos, seleccionando 10 segundos como valor óptimo (Figura 3.10). En inyecciones hidrodinámicas, un tiempo de inyección elevado puede causar el ensanchamiento de los picos y el empeoramiento de la separación. Pero hay que tener también en cuenta que el volumen de la muestra inyectada dependerá de la viscosidad del electrolito, la presión, el tiempo de inyección y las dimensiones del capilar. Por esto, al trabajar con un capilar de diámetro reducido ($20 \mu\text{m}$ d.i.) se determinó elevar hasta 10 s el tiempo de inyección comprobando que la separación y forma de los picos era adecuada.

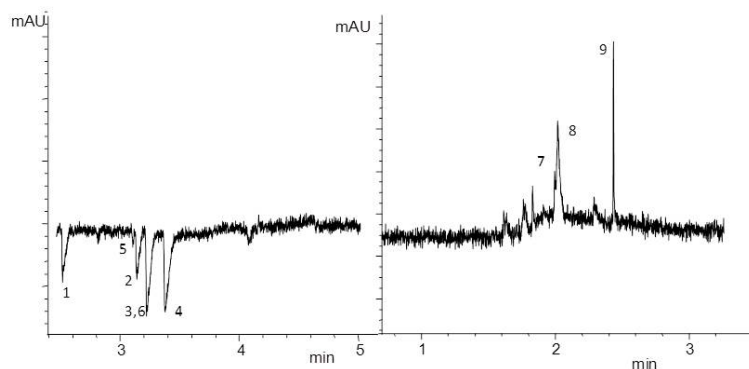


Figura 3.10: Electroferogramas de la mezcla patrón obtenidos tras la optimización del método. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM ; pH 12,1; T^a 20 °C; -20 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (5) alizarín; (6) purpurín; (7) brazilina; (8) brazileína; (9) ácido carmínico.

Con el uso de un capilar de menor diámetro se consiguió mejorar la sensibilidad de los picos electroforéticos de ácido glucurónico (1) y galactosa (4). También se mejoró la resolución entre los picos de ramnosa (2), arabinosa y purpurín (3,6) y galactosa (4). Además se redujo el tiempo de análisis. La separación de las señales correspondientes a arabinosa y purpurín no fue posible a pesar de la optimización de todos los parámetros. En cualquier caso, los compuestos alizarín y purpurín aparecerán siempre en conjunto puesto que la separación de ambos solo se puede realizar en un laboratorio por medios químicos y el escribano o artista que empleara el rojo de Rubia lo emplearía extrayendo ambos compuestos de la raíz o con un colorantes comercializado con ambos compuestos. Tampoco podría dar lugar a error la confusión por la identificación de purpurín en lugar de arabinosa porque este monosacárido también aparecería en conjunto con el resto de monosacáridos y el ácido que componen la goma arábica.

En la tabla 3 se muestran las condiciones óptimas del método electroforético y en la figura 9 los electroferogramas obtenidos bajo las condiciones óptimas, a 270 y 335 nm, de la muestra con mezcla de todos los analitos. En la tabla 4 se recogen los tiempos de migración de cada analito y sus longitudes de onda máximas.

Capilar	36 cm x 20 μ m d.i.
Tampón	PO ₄ ⁻³ 20 mM, CTAB 0,5 mM y PDC 40 mM
pH	12,1
Voltaje	-20 kV
Temperatura	20°C
Inyección	50 mbar, 10 s
Longitud de onda	270 y 335 nm

Tabla 3.3: Condiciones óptimas del método electroforético.

Sustancia		Pico nº	T _M (min)	$\lambda_{\text{identificación}}$ (nm)
Goma arábica	Ácido glucurónico	1	2,44	270
	Ramnosa	2	3,06	270
	Arabinosa	3	3,15	270
	Galactosa	4	3,30	270
Rojo de Rubia	Alizarín	5	3,03	270
	Purpurín	6	3,15	270
Rojo madera de Brasil	Brazilina	7	1,99	335
	Brazileina	8	2,01	335
Rojo carmín	Ácido carmínico	9	2,434	335

Tabla 3.4: Tiempos de migración y longitudes de onda máximas.

3.4.3. Aplicación del método

La aplicación de la metodología propuesta se llevó a cabo en dos etapas. En la primera etapa se preparó una muestra en el laboratorio simulando una tinta de escritura con materiales conocidos con el objeto de validar la metodología propuesta así como la toma y tratamiento de muestra. En la segunda etapa se aplicó dicha metodología para analizar las muestras de la colección de pergaminos manuscritos.

3.4.3.1. Muestra de laboratorio

La toma y tratamiento de muestra y el análisis simultáneo de los componentes de las muestras realizadas en el laboratorio fue efectivo. Se prepararon muestras de cada uno de los colorantes aglutinados con goma arábiga para comprobar la idoneidad del método desarrollado. Se muestra, a modo de ejemplo, los electroferogramas obtenidos de una de una de las muestra preparada, donde puede identificarse el ácido carmínico procedente del rojo de carmín y el ácido y los tres monosacáridos componentes de la goma arábiga (Figura 3.11). Las ligeras variaciones en los tiempos de migración están dentro del error estándar relativo de tiempo de migración calculado para esta técnica (menor a 0,5 %).

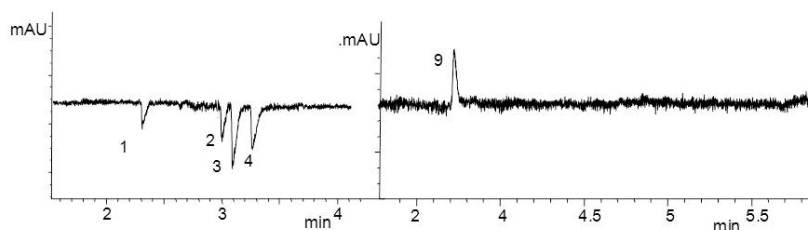


Figura 3.11: Capa de color de rojo de carmín preparada en el laboratorio para validar el método. Tampón PDC 20 mM, PO_4^{-3} 20 mM y CTAB 0,5 mM; pH 12,1; T^a 20 °C; -20 kV. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (9) ácido carmínico.

3.4.3.2. Muestra de la colección de pergaminos

El método fue aplicado sobre la colección de pergaminos manuscritos de la Real Chancillería de Granada compuesta por 219 documentos.

Tras la consulta directa de la colección se seleccionaron un total de 27 manuscritos que contenían tintas rojas, naranjas o rosas. De entre ellos se tomaron 44 muestras de las que 28 dieron resultado positivo mientras que 16 dieron resultado negativo para los analitos que se pretendían identificar.

La identificación de los analitos se basó en los tiempos de migración y el espectro UV-vis obtenido en el ápice del pico electroforético comparando con los resultados obtenidos de las muestras empleadas como patrón. En los casos en los que había dudas, debido a la baja concentración del analito, las muestras se doparon añadiendo una pequeña concentración de los patrones conocidos para observar si los picos electroforéticos aumentaban en área o altura y por lo tanto correspondían a los analitos de estudio.

Las tablas 3.5, 3.6 y 3.7 recoge el número de muestras tomadas de cada uno de los manuscritos junto con el año en el que se ha datado el documento y las sustancias identificadas.

Nº Pergamino	Año	Localización	Identificación			
			Carmín	Rojo de Brasil	Rojo de Rubia	Goma arábica
1	1499	Letra título (T)	X	X	X	X
		Pág. 7 Letra capital (L)	✓	X	X	X
4	1514	Última letra capital	X	X	X	X
8	1431	Letra capital inicial	X	X	X	✓
12	1515	Última letra capital	X	X	X	X
17	1537	Letra (B)	X	X	X	✓
31	1513	Primera letra capital	X	X	X	X
35	1506	Primera letra capital	X	X	X	X
36	1509	Pág. 3 Letra capital	✓	X	X	✓
44	1426	Letra capital	X	X	X	X
47	1579	Pág. 1 Letra	X	X	X	X
		Pág. 14 Letra	X	X	X	✓
		Escudo	✓	X	X	✓
48	1542	Escudo inicial, rojo anaranjado	✓	X	X	X
		Escudo inicial, rojo intenso	X	X	X	X
		Letra capital (S)	X	X	X	X

Tabla 3.5: Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colección de pergaminos I.

Nº Pergamino	Año	Localización	Identificación			
			Carmín	Rojo de Brasil	Rojo de Rubia	Goma arábica
49	1537	Pág. 2 Letra (A)	X	X	X	X
50	1539	Letra capital (P)	X	X	X	✓
		Letra capital (I)	X	X	X	✓
		Letra (O)	X	X	X	✓
		Fresas y flores	X	X	X	✓
		Escudo	✓	X	X	X
51	1535	Escudo	X	X	X	✓
		Pág. 5 Letra capital	X	X	X	✓
52	1608	Escudo	✓	✓	X	✓
		Virgen	X	X	X	X
		Nombre "Don Philippe"	X	X	X	✓
57	1554	Nombre "Don Carlos"	X	X	X	✓
		Flores	X	X	X	✓
58	1462	Escudo	✓	X	X	✓
		Letra (T)	X	X	X	X
		Letra (L)	X	X	X	X

Tabla 3.6: Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colección de pergaminos II.

Nº Pergamino	Año	Localización	Identificación			
			Carmín	Rojo de Brasil	Rojo de Rubia	Goma arábica
59	1515	Iniciales	✓	X	X	X
71	1564	Iniciales	✓	X	X	X
116	1587	Iniciales	✓	X	X	X
121	1598	Iniciales (naranja)	X	X	X	X
		Iniciales (violeta)	X	X	X	X
127	1700	Iniciales	✓	X	X	X
157	1524	Iniciales	✓	X	X	X
174	¿?	Iniciales	X	X	X	✓
180	¿?	Iniciales	✓	X	X	X
188	1513	Iniciales (D)	✓	X	X	X
		Iniciales (L)	X	X	X	✓

Tabla 3.7: Resultados de los análisis sobre las muestras obtenidas de la colección de pergaminos III.

De las muestras analizadas se destacan los siguientes resultados.

En cuanto a la identificación de los colorantes rojos, el rojo de carmín se identificó en 14 muestras correspondientes a los documentos número 1, 36, 47, 48, 50, 52, 58, 59, 71, 116, 127, 157, 180 y 188, correspondiendo la muestra más antigua al año 1462 y la más reciente a 1700. El rojo procedente de la madera de Brasil se encontró exclusivamente en una muestra del mapa número 52 fechado en 1608. Finalmente el rojo de Rubia no se identificó en ninguna muestra de las analizadas.

La presencia de goma arábica se identificó en 19 muestras pertenecientes a los documentos número 8, 17, 36, 47, 50, 51, 52, 57, 58, 174 y 188, correspondiendo la muestra más antigua al año 1431 y la más reciente al año 1608.

La identificación simultánea de colorantes y goma arábiga fue positiva en 4 muestras del total analizadas: en los manuscritos 36, 47 y 58 (Figura 3.12) se identificó rojo de carmín y goma arábiga (Figura 3.13), siendo el documento más antiguo fechado en 1462, por lo que señalamos que el ácido carmínico característico de esta muestra roja no puede proceder de la cochinilla *Coccus cacti*, puesto que aún no había intercambio comercial con América del Sur, por lo que podría proceder de la cochinilla de Armenia u otro insecto europeo o asiático; en el manuscrito 52 (Figura 3.14) fechado en 1608, se identificó la mezcla de rojo carmín, rojo de madera de Brasil y goma arábiga (Figura 3.15). Las fichas descriptivas de los pergaminos pueden consultarse en el apéndice A.

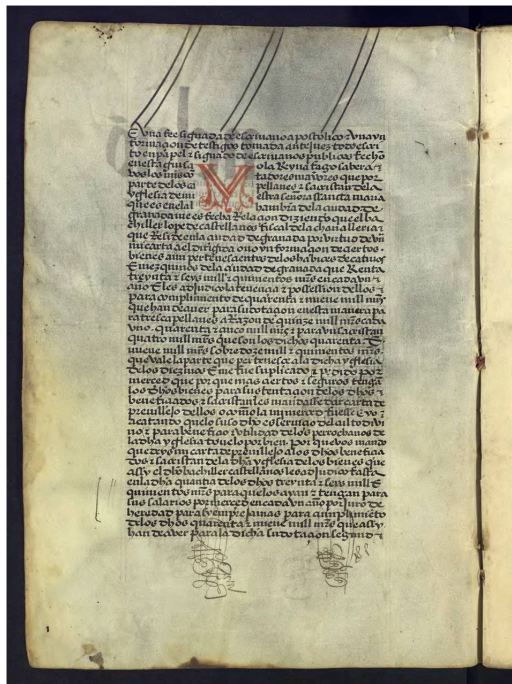


Figura 3.12: Imágen de pergamino, referencia: ES.18087. ARCHGR / 060CDMA
// Pergamino nº 36.

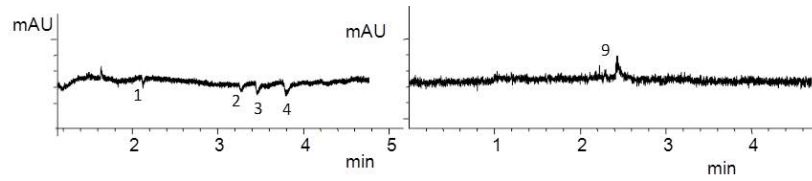


Figura 3.13: Electroferogramas de la muestra procedente del pergamino n^o 36. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (9) ácido carmínico.



Figura 3.14: Imágen de pergamino, referencia: ES.18087. ARCHGR / 060CDMA // Pergamino n^o 52.

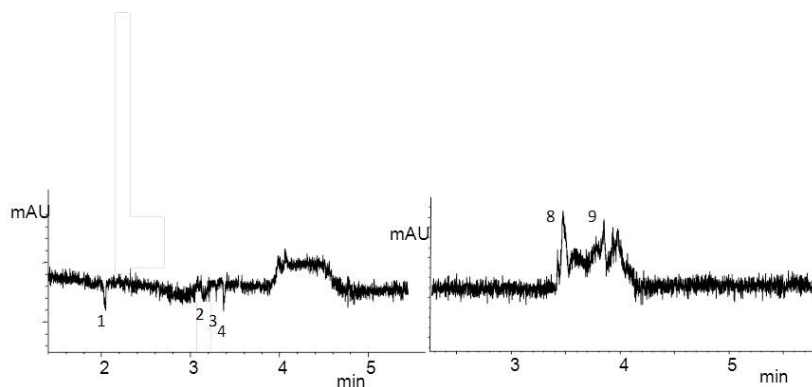


Figura 3.15: Electroferogramas de la muestra procedente del pergamino n° 52. Izq. 270 nm; drcha. 335 nm. Identificación de los picos: (1) ácido glucurónico; (2) Ramnosa; (3) arabinosa; (4) galactosa; (8) brazileina; (9) ácido carmínico.

3.5. Conclusiones

Se ha comprobado que CE-PDA es una técnica óptima de análisis para la separación e identificación de la goma arábiga y los colorantes presentes en este estudio. La identificación de la mezcla de los analitos seleccionados es efectiva, usando una única muestra y un único tratamiento de muestra.

La toma y tratamiento de las muestras es simple, rápido y económico.

La muestra necesaria es mínima, del orden de los microgramos, por lo que se considera que es un sistema de identificación de micromuestras con una técnica de análisis micro-invasiva.

Las muestras presentaron electroferogramas bastante limpios a pesar de las complejas matrices con las que se trató, por lo que cabría afirmar que el método de tratamiento de muestra e identificación es, además, muy selectivo.

La principal ventaja de la identificación simultánea radica en la obtención de gran información con poco número de muestras, por lo que se protege la integridad física del documento.

En cuanto a la colección estudiada, se observa que los ilustradores no suelen emplear mezclas de colorantes rojos, excepto en uno de los casos en el que se

pudo emplear para modificar la tonalidad roja, por el uso de capas superpuestas, o por la simple contaminación del pincel. También se ha observado que es mucho más común el uso de rojo de carmín dentro del grupo de rojos orgánicos en esta colección.

El uso de la goma arábica como aglutinante fue habitual en las técnicas de decoración de obras manuscritas sobre pergamino durante la edad media y hasta el s. XVIII como se ha podido comprobar con la gran cantidad de muestras positivas. En aquellas en las que no se ha identificado el aglutinante, puede deberse al uso de otras sustancias como aglutinante (goma de tragacanto, colas, huevo. . .) o a la baja concentración de la goma arábica.

La insistencia en el empleo de electroforesis capilar para el análisis de materiales en patrimonio cultural que se lleva realizando desde 2007, se debe a la baja cantidad de muestra necesaria para su análisis (técnica micro-invasiva) y a la gran información que se puede obtener de un solo análisis; sumando los conocimientos que ya se tienen, se puede identificar de manera simultánea los colorantes, aglutinantes e incluso el estado de envejecimiento de los materiales con una sola muestra y un único análisis.

Capítulo 4

Les colorants rouges (XIXe et XXe) de la collection provenant de l'Institut Supérieur Industriel de Verviers (Belgique) : étude historique et spectrophotométrique

RESUMEN

El centro Ernest-Babelon cuenta, actualmente, con la colección de colorantes industriales destinados al teñido de textiles proveniente del Instituto Superior Industrial de Verviers (Bélgica), cedida una vez que cesó su actividad. Los productos custodiados representan un conjunto de material industrial de valor inestimable del siglo XIX.

Los análisis para la caracterización de los colorantes efectuados en el Centro han sido la espectrometría de absorción por reflexión difusa, la espectrometría de fluorescencia de rayos X y la colorimetría. El hecho de disponer de muestra permitió efectuar otros análisis espectrales complementarios con espectrofotometría UV-vis,

disponible en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada (España), trabajo realizado durante una colaboración entre ambos organismos.

Su clasificación y caracterización por métodos de análisis espectrométricos podrán representar una contribución importante en arqueología industrial. Esta caracterización no será únicamente un conjunto de datos, sino que permitirá establecer una base de referencia correspondiente a un periodo insuficientemente representado hoy en día, además de engrosar el campo de estudios sobre pigmentos y colorantes en un espacio temporal distinto a la prehistoria o la Edad Media.

ABSTRACT

The Center Ernest-Babelon hosts an important collection of textile industrial dyes from the Superior Industrial Institute of Verviers (Belgium). The collection was donated to the Center when the Institute was closed down. This industrial materials collection from the 19th century has an inestimable know-how value.

At the Center, absorption spectroscopy/diffuse reflectance, X-ray fluorescence spectrometry and colorimetry were used in order to characterize these dyes. The availability of the samples allowed carrying out additional analyses with UV-vis spectrophotometry in the Analytical Chemistry Department of the University of Granada (Spain) through collaboration between the two institutes.

The classification and characterization by spectrometry techniques will be an important scientific contribution to industrial archaeology. The large set of data gathered through the characterization will not only be quantitative but should enable establishing a database of dyes from this insufficiently represented period of time, in contrast to the large amount of available studies on prehistoric and medieval pigments and dyes.

RÉSUMÉ

Une collection de colorants industriels destinés à la teinture des textiles se trouve aujourd'hui déposée au Centre Ernest-Babelon. Elle provient de L'Institut Supérieur Industriel Textile de Verviers (Belgique) qui a depuis plusieurs années cessé son activité. Les produits sauvegardés représentent un ensemble industriel inestimable en matière de savoir-faire remontant au XIXe siècle.

Les analyses pour la caractérisation des colorants ont été principalement effectuées au moyen de méthodes développées au Centre : la spectrométrie d'absorption

par réflexion diffuse la spectrométrie de fluorescence X et la colorimétrie. Le fait de disposer des échantillons a permis d'effectuer d'autres analyses spectrales complémentaires dont la spectrophotométrie UV-vis, disponible au département de Chimie Analytique de l'Université de Grenade (Espagne). Ces analyses ont été effectuées dans le cadre d'une collaboration entre les deux organismes.

Le classement et la caractérisation de ces colorants par des méthodes d'analyses spectrométriques pourront représenter une contribution importante à l'archéologie industrielle. Cette caractérisation ne sera pas uniquement un ensemble de données de type quantitatif, elle permettra d'établir une base de données de référence correspondant à une période insuffisamment représentée à ce jour et élargir ainsi le domaine d'étude des pigments et colorants à un espace temporel autre que celui de la préhistoire ou du moyen-âge.

4.1. Introduction

Dans l'histoire de l'art, l'histoire contemporaine est une période d'une grande importance dans le développement des matériaux. Les colorants synthétiques textiles du début de la fabrication des colorants synthétiques à l'explosion industrielle à la fin du XIXe siècle sont encore mal connus. Les efforts pour l'étude et le recueil de données d'analyses restent insuffisants.

Ces types de colorants sont rarement mentionnés dans la bibliographie de la conservation des textiles, donnant une fausse impression indiquant que les colorants organiques synthétiques sont peu employés, alors qu'ils sont une des principales sources de la teinture textile malgré qu'ils soient des produits très polluants.

Actuellement, il existe environ 5000 colorants le cuir, le papier, les textiles ou les aliments. Cela ne veut pas dire que notre œil est capable de différencier autant de nuances de couleurs mais l'existence de ces nombreux produits traduit une évolution basée sur des considérations strictement techniques si ce n'est purement commerciales.

4.1.1. L'Institut Supérieur Industriel Textile

La province de Liège est une province wallonne de Belgique. Verviers est l'un des quatre arrondissements administratifs de la province de Liège. A l'ère industrielle (du XVIIIe au début du XXe siècle) elle fut un centre important de production lainière connu et reconnu mondialement pour ses innovations technologiques¹. En 1842, la Chambre de Commerce avait un établissement d'enseignement professionnel d'ordre général, mais la création de l'enseignement textile proprement dit à Verviers remonte à l'année 1855 quand la Chambre de Commerce créa une Ecole de tissage², origine de l'Institut Supérieur Industriel de la Communauté française de Belgique (à partir de 1992).

Les sujets principaux qui sont confiés à l'Institut Supérieur Industriel Textile pour la formation des ingénieurs sont en rapport avec l'industrie textile : la chimie des textiles et des colorants, la gestion économique et financière de l'entreprise ou bien l'aspect écologique de techniques de production.

En 2006, la collection de colorants modernes en provenance de l'Institut Supérieur Industriel Textile de Verviers (Belgique) a été confiée au Centre Ernest-

¹www.verviers.be Consultation 8/07/2008.

²www.verviers.be Consultation 30/06/2008.

Babelon. Dans la collection des colorants modernes en provenance de Verviers presque tous les flacons conservent leur étiquette d'origine. Ainsi, on peut constater la grande variété des entreprises internationales consacrées à la fabrication et à la commercialisation de colorants et pigments pour les textiles durant les XIXe et XXe siècles.

Ces colorants modernes proviennent de marques différentes et de pays distincts. Les marques classées par pays d'origine sont :

- Suisse (Ciba, Geigy, Ciba-Geigy, Sandoz)
- Allemagne (BASF, Hoechst, Cassella, Cassella-Hoechst, Bayer, IG Farbenindustrie)
- Angleterre (L.B. Holliday, I.C.I., Yorkshire Chemicals Ltd.)
- Belgique (Les colorants de Tertre S.A., Althouse Tertre S.A., TERTRE carbonichimique S.A., ETS J. Vandemeulebroucke S.A.)
- France (Ets Kuhlmann, Française des matières colorantes S.A., Francolor)
- Hollande (Vondelingenplaat)
- U.S.A. (Dupont de Nemours)
- Italie (Aziende colori nazionali affini)

Les cinq principales marques CIBA, L.B. Holliday, BASF, Geigy et Hoechst (comptant chacune environ une centaine de produits) représentent plus de 55 % des 1185 échantillons inventoriés (pour l'instant, 40 bacs étiquetés et numérotés).

4.1.2. Les entreprises productrices des colorants

Geigy, Ciba et Sandoz ont été créés à Bâle, ces entreprises ont initialement fait le commerce de teintures pour textiles puis plus tard celui des médicaments. La plus ancienne des trois est Geigy, créée au milieu du XVIIIe siècle, devient Ciba aux environs de 1860 puis Sandoz en 1886 [Fontrodona, 2005]. Les noms de Geigy et Sandoz proviennent de ses fondateurs, alors que Ciba vient des initiales de « Company for Chemical Industry Basel ». Le groupe international Novartis provient de la fusion de ces trois entreprises.

Geigy

L'histoire des sociétés fondatrices de Novartis commence en 1758 quand Johann Rudolf Geigy-Gemuseus crée à Bâle une société pour faire le commerce de « Matériaux, produits chimiques, teintures et médicaments en tous genres ». En 1857, Johann Rudolf Geigy Merian, en association avec Johann Müller-Pack, fait l'acquisition d'un terrain à Bâle sur lequel il construit un moulin pour le pilage des bois de teinture et une usine d'extraction des teintures. Deux ans plus tard, ils amorcent la production de fuchsine synthétique. Au début du XXe siècle la raison sociale de l'entreprise devient J.R. Geigy Ltd. Vingt ans après, c'est la création à Manchester de la société « Geigy Colour Company Ltd. » et trois ans plus tard la construction d'une usine à Huningue, en France.

En 1925, commence la concurrence avec Ciba pour la fabrication de produits auxiliaires textiles et un peu plus tard avec le démarrage de la production d'insecticides. En 1939, Paul Müller, chercheur à Geigy, découvre l'efficacité du DDT, découverte qui lui vaut le prix Nobel en 1948. Geigy perdure avec l'introduction de nouveaux herbicides et médicaments jusqu'en 1970 ; à cette date Ciba et Geigy fusionnent pour former Ciba-Geigy Ltd.

Ciba

En 1859, Alexander Clavel lance la production de la fuchsine au sein de son usine de teinture de la soie à Bâle. Cinq ans après, de nouvelles installations vouées à la production de teintures sont construites et, en 1873, Clavel vend son usine de teinture à la société Bindschedler & Bush, récemment créée. Plus tard, c'est la transformation de Bindschedler & Bush en une société par actions à responsabilité limitée sous le nom de « Gesellschaft für Chemische Industrie Basel » (Compagnie pour l'industrie chimique de Bâle). L'abréviation « Ciba » devient si répandue que les dirigeants l'adoptent en 1945 comme nom de leur Société. Cette entreprise évolua en introduisant la production de substances pharmaceutiques de la même façon que Geigy³.

En 1918, une convention d'exploitation commune des mêmes substances pharmaceutiques « Interessengemeinschaft Basel » (Basler IG) se met en place entre Sandoz, Ciba et Geigy. Cette convention sera reconduite jusqu'en 1950.

³ www.ciba.com Consultation 12/12/2007.

Sandoz

L'origine de Sandoz remonte à 1886, quand le Dr. Alfred Kern et Edouard Sandoz constituent à Bâle une Compagnie de produits chimiques. Les deux premières teintures produites au sein de cette compagnie seront le bleu d'alizarine et l'auramine. La Compagnie lance durant 1895 les premières substances pharmaceutiques et le partenariat est transformé en une société par actions sous la raison sociale de « Chemische Fabrik vormals Sandoz ».

Peu à peu, la Société Chemische Fabrik vormals Sandoz crée de nouveaux départements comme le département des produits chimiques responsable des produits pour les textiles, le cuivre et le papier. En 1995, avec la création de Clairant Ltd., Sandoz se sépare de la division Chimie pour se concentrer sur ses activités dans les secteurs Pharmacie et Aliments.

Novartis

En 1996, Sandoz et Ciba (antérieurement Ciba-Geigy) fusionnent pour former Novartis dans le cadre de l'une des plus importantes fusions d'entreprises de l'histoire. L'organisation de Novartis s'articule en divisions distinctes qui répondent à un positionnement diversifié dans la santé ; de fait, aujourd'hui Novartis est l'une des plus grandes entreprises actives dans le domaine de la santé. Cependant au cours de cette fusion Novartis abandonne la fabrication des colorants, voue un dévouement exclusif au secteur pharmaceutique.

Parallèlement, la production des colorants continue liée aux entreprises Sandoz et Ciba. Un secteur de l'entreprise Sandoz continue la production des colorants après la fusion avec Clariant et forment « Clariant-Sandoz » en 1995. Et à partir de 1996, après la formation de Novartis, un secteur de Ciba a pris son indépendance sous le nom de Ciba Specialty Chemicals qui conserve la production des colorants⁴.

4.2. Matériaux et méthodes d'analyses

4.2.1. Matériaux, réactifs et solvants

Les solvants employés ont été l'eau Milli-Q, qualité ultra pure (Millipore, Bedford, USA), le méthanol qualité HPLC procuré par Merck (Darmstadt, Allemagne).

⁴www.novartis.fr Consultation 01/10/2008.

ne), et le dodécyl-sulfate de sodium (SDS) en solution aqueuse 0,1 M procuré par Sigma Aldrich Chemie (Steinheim, Allemagne).

Les colorants rouges en poudre fine pour textiles des entreprises Geigy, Ciba et Sandoz proviennent de l'Institut Supérieur Industriel Textile de Verviers (Liège, Belgique).

Pour le support des colorants nous avons employé du carton neutre sans adhésifs ni colorants, et du ruban adhésif neutre de la marque Scotch® Magic™ 3M (Madrid, Espagne).

4.2.2. Instrumentation

Nous avons travaillé avec le système de spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse d'Ocean Optic (France) équipé d'un spectromètre à réseau plan gravé de 300 t/mm et à fente d'entrée 50 μm et d'un détecteur ccd 2048.

La caractérisation par spectrophotométrie UV-vis a été effectuée avec un spectrophotomètre Agilent 8453E (Waldbronn, Alemania).

Le spectromètre de fluorescence X portable ARTAX de Bruker (France) utilisé est équipé de deux tubes de rayon X fonctionnant à une puissance maximale de 50 kV et 0,8 mA : un tube à anode de molybdène et un tube à anode de tungstène.

Le répertoire des coordonnées colorimétriques a été obtenu à partir des spectres d'absorption par réflexion diffuse.

4.2.3. Préparation des échantillons

Pour l'étude de notre ensemble de colorants nous avons sélectionné les rouges en poudre fine pour textiles des entreprises Geigy, Ciba et Sandoz ayant une coloration correspondante à : 2.5R (4/8, 4/10, 4/12) et 5R (4/10, 4/12, 4/14) dans le système Munsell. Tous ces colorants sont situés dans les bacs 1 (B1) à 40 (B40).

4.2.3.1. L'étude par spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse et spectrométrie de fluorescence X

Les mesures par spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse et spectrométrie de fluorescence X ont été effectuées directement sur le colorant en poudre. L'échantillon n'a pas besoin d'un traitement spécifique, seulement d'un support adéquat.

Le support de carton neutre, est composé de deux plaques de 3,5 mm d'épaisseur. La première plaque contient des enfoncements circulaires de 6 mm de diamètre régulièrement espacés pour le dépôt des échantillons poudreux. Les deux plaques sont unies avec un ruban adhésif neutre. Une fois les échantillons déposés, on recouvre la face supérieure du support avec le même ruban adhésif pour faciliter le nettoyage de la surface de l'échantillon et éviter la contamination entre les colorants (Figure 4.1).

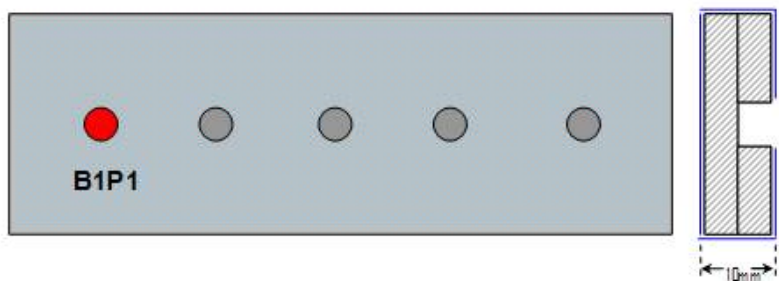


Figura 4.1: Structure du support.

Le support de carton neutre s'est avéré compatible avec l'étude par spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse et par spectrométrie de fluorescence X parce que l'épaisseur du colorant compacté est de 3,5 mm et parce qu'il n'engendre pas de raies interférentes.

4.2.3.2. L'étude par spectrométrie UV-vis

Les spectres d'absorptions pour la spectrométrie UV-vis sont obtenus suite à la dissolution des colorants dans un solvant adéquat (solutions translucides).

Plusieurs solvants ont été testés : H₂O ultra pure qualité Milli-Q, Méthanol et Dodécyl-sulfate de sodium (SDS) en solution aqueuse 0,1 M. Dans toutes les solutions la concentration de colorant est de 500 mg/L.

Tous les colorants sont solubles dans H₂O et SDS. Tous les échantillons sont également totalement soluble dans le méthanol sauf B8P3, B8P4, B17P23, B35P9 et B35P10 qui ne le sont que partiellement.

Nous avons sélectionné le solvant le mieux adapté à notre étude en comparant les courbes d'absorbance des colorants dissous dans les solvants. Les maxima d'absorption sont identiques pour les solutions des colorants dans les trois solvants mais on distingue les plus fortes absorptions dans le SDS en solution aqueuse 0,1 M.

4.2.4. Méthodes d'analyses

4.2.4.1. La spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse

Les conditions expérimentales sont en mode d'absorbance, avec un temps d'intégration de 800 msec et nombre d'acquisitions pour la moyenne 50.

Nous avons fait 3 mesures dans 3 zones différentes de chaque échantillon.

4.2.4.2. La spectrométrie UV-vis

Les colorants ont une forte absorption dans la zone visible du spectre mais le maximum d'absorption n'est pas systématiquement situé dans le domaine visible [Hedayatullah, 1976]. L'étude par spectrométrie UV-vis de tous les colorants va compléter les données obtenues par spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse dans la zone ultraviolette du spectre. Les conditions des mesures sont en mode d'absorption et la gamme des longueurs d'onde utilisées est 190 et 1100 nm.

Nous avons fait 3 mesures de chaque échantillon dans les 3 solvants pour déterminer l'homogénéité des échantillons.

4.2.4.3. La spectrométrie de fluorescence X

Nous avons employé une source d'excitation avec un tube à rayons X équipé d'un filament du tungstène chauffé par un courant (cathode) et d'une anticathode au molybdène pour l'acquisition des spectres de rayons X de chaque colorant.

4.2.4.4. La colorimétrie

Les conditions pour les données colorimétriques qui ont été calculées sont les suivantes : Illuminant C, observateur à 10° et plage de calcul du domaine spectral 380-780 nm. Les conditions ont été sélectionnés selon les requises du logiciel employé pour l'exportation de données. Le logiciel que nous avons utilisé et qui permet d'obtenir les données colorimétriques à partir des spectres d'absorption par réflexion diffuse a été développé par Mathieu Guilhem [Guilhem, 2003].

4.3. Résultats et discussion

Une fois les trois types de mesures effectuées sur tous les colorants, nous avons comparé les données entre colorants ayant un même nom générique, les colorants fabriqués par la même entreprise, etc et cherché à comprendre les particularités de chacun ainsi que les similitudes. C'est pourquoi, nous présentons dans les résultats les courbes obtenues en absorption par réflexion diffuse, celles obtenues en spectrométrie UV-vis et les coordonnées colorimétriques selon deux modes de classification, l'un lié au nom commercial du colorant, l'autre lié au classement selon le Colour IndexTM Generic Name (CIGN). Le Colour Index est un système de catalogage universel de tous les colorants connus avec l'information sur leur constitution chimique, leurs désignations commerciales et leurs propriétés entre autre type d'information [Meybeck, 1963].

Les résultats du classement suite à toutes les analyses pour chaque colorant sont compilés en annexe B.

4.3.1. Résultats des analyses selon le nom commercial

La première comparaison de nos résultats s'est faite sur la base du nom commercial noté sur l'étiquette originale du flacon. Les groupes que l'on a pu constituer sont les suivants:

- Terasil. 1 échantillon : B6P12
- Erio/Erionyl. 3 échantillons : B17P23, B26P16, B26P18
- Nylosane. 5 échantillons : B35P26, B35P27, B35P28, B39P22, B39P27
- Xylene. 2 échantillons : B18P30, B27P24
- Drimarene. 12 échantillons : B8P3, B8P4, B8P9, B8P12, B34P4, B34P5, B35P9, B35P10, B35P11, B35P12, B35P13, B35P15
- Tectilon. 2 échantillons : B39P31, B40P10
- Lanazol. 3 échantillons : B39P32, B40P11, B40P12
- Leonyl. 1 échantillon : B40P7
- Cibacrone . 4 échantillons : B40P8, B40P9, B40P17, B40P18
- Cibalane. 1 échantillon : B26P1
- Ecarlate direct. 10 échantillons : B40P20, B40P21, B40P22, B40P23, B40P24, B40P25, B40P26, B40P27, B40P28, B40P29
- Aquamine. 1 échantillon : B40P42

Nous avons fait l'étude de chaque échantillon pour faire la comparaison entre les données obtenues des spectres d'absorption et la première dérivée acquises par la spectrométrie d'absorption par réflexion diffuse.

En général, tous les spectres présentent une forte absorption jusque 500 nm environ et une rupture de pente vers 630 nm (données caractéristiques d'un colorant rouge). Après nous avons souligné les similitudes et les particularités de chaque colorant.

Le tableau suivant récapitule les similitudes et les différences entre les échantillons selon le regroupement fait à partir de nom commercial et les données obtenues par spectrométrie d'absorption (Tableau 4.1) :

Groupes Nom Commercial	Fabricant	Groupes constitues	Echantillons uniques
Terasil	Ciba-Geigy		B6P12
Erio/Erionyl	Geigy et Bale	B26P16 ; B26P18	
	Ciba-Geigy		B17P23
Nylosane	Sandoz	B35P26 ; B35P27	
		B35P28 ; B39P22	
			B39P27
Xylene	Sandoz		B18P30
			B27P24
Drimarene	Sandoz	B8P12 ; B35P15	
		B35P9 ; B35P10	
		B35P12 ; B35P13	
			B8P3
			B8P4
			B8P9
			B34P4
	B34P5		
		B35P11	
Tectilon	Ciba-Geigy		B39P31
	Ciba		B40P10
Lanasol	Ciba-Gaigy	B39P32 ; B40P12	
	Ciba		B40P11
Leonyl	Ciba		B40P7
Cibacrone	Ciba		B40P8
			B40P9
			B40P17
			B40P18
Cibalane	Ciba		B26P1
Ecarlate direct	Ciba	B40P21; B40P22 ; B40P23 ; B40P24 ; B40P25 ; B40P26; B40P27 ; B40P28 ; B40P29	
			B40P20
Aquamine	Sandoz		B40P42

Tabla 4.1: Grupos constitués et échantillons indépendants selon l'étude par nom commercial.

Le graphique suivant indique la position des coordonnées colorimétriques a^* et b^* correspondantes aux échantillons rouges précédents dans le système CIE $L^*a^*b^*2000$ (Figure 4.2).

Les données colorimétriques des 45 colorants rouges oscillent entre 20 et 40 sur l'axe a^* . Sur l'axe b^* les données oscillent entre 5 et 20 pour la plupart des colorants rouges et 30 pour le colorant B34P5 qui est le plus écarté de la zone de regroupement générale (a^* , b^*) où se trouvent les rouges.

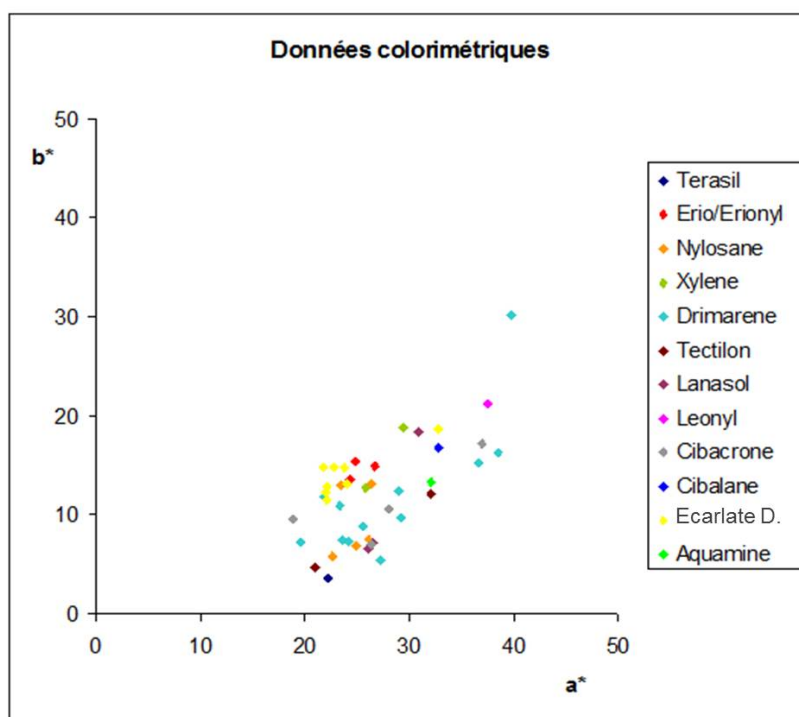


Figura 4.2: Coordonnées colorimétriques a^* et b^* des colorants rouges par « nom générique » selon le système CIE $L^*a^*b^*2000$.

La figure .. montre que les données colorimétriques des colorants analysés ne se regroupent pas selon l'ordre de leurs noms commerciaux. Effectivement, i la diversité des colorants qui appartiennent à un groupe donné selon le nom commercial est grande. Ainsi nous pouvons conclure que le « nom commercial » n'est pas une référence de la coloration ni du type de colorant en poudre.

4.3.1.1. Résultats de l'étude par spectrométrie de fluorescence X

Nous avons étudié tous les échantillons par spectrométrie de fluorescence X pour vérifier s'il y avait des éléments de numéro atomique supérieur à 13 qui pouvaient se trouver présents dans la base du colorant ou comme additif.

Les éléments détectés par spectrométrie de fluorescence X nous permettent d'effectuer les regroupements montrés au tableau 4.2 Nous y avons indiqué le colorant par type, nom commercial, nom du fabricant, les éléments détectés (les éléments dont la réponse est de faible intensité sont indiqués entre parenthèses).

Type	Nom commercial	Fabricant	Echantillons	Eléments	CIGN
Acide	Erio	Geigy-Bale	B17P23	S, Cl	C.I. Acide
	Erionyl	Ciba Geygi	B26P16	S, Cl, K, Fe	C.I. Acide rouge 114
			B26P18	S, Cl, K, Fe	C.I. Acide rouge 114
	Tectilon	Ciba-Geygi	B39P31	S, Cl, Fe, Pb (Ca)	C.I. Acide rouge 331
		Ciba	B26P1	S, Cl, Fe	C.I. Acide rouge 253
	Leonyl	Ciba	B40P7	S, Cl, K, Zn	C.I. Acide rouge 85
	Cibalane	Ciba	B40P10	S, Fe, Zn (Cl, Ca)	C.I. Acide rouge 57
	Nylosane	Sandoz	B35P26	S, Fe, (Cl)	C.I. Acide rouge 57
			B35P27	S, Fe (Cl)	C.I. Acide rouge 57
			B35P28	S, Cl, K	C.I. Acide rouge 114
			B39P22	S, Cl, K	C.I. Acide rouge 114
			B39P27	S, Fe (Cl)	C.I. Acide rouge 57
	Xylene	Sandoz	B18P30	S, Cl, Fe, Pb, (Ca)	C.I. Acide rouge 3 BP
			B27P24	S, Cl, Fe (Ca)	C.I. Acide rouge 118
Aquamine	Sandoz	B40P42	S, Cl, Fe, Pb, Br (Cu)	C.I. Acide rouge 57	
Réactif	Drimarene	Sandoz	B8P3	S, Cl, Fe	C.I. Réactif rouge 86
			B8P4	S, Cl	C.I. Réactif rouge 123
			B8P9	S, Cl	C.I. Réactif rouge 147
			B8P12	S, Cl, K, Br	C.I. Réactif rouge ?
			B34P4	S, Cl, (Ca, Fe)	C.I. Réactif rouge 28
			B34P5	S, Cl, (Ca, Fe)	C.I. Réactif rouge 99
			B35P9	S, Cl	C.I. Réactif rouge 118
			B35P10	S, Cl	C.I. Réactif rouge 118
			B35P11	S, Cl, (Fe)	C.I. Réactif rouge 124
			B35P12	S, Cl	C.I. Réactif

Tabla 4.2: Résultats de l'analyse par spectrométrie de fluorescence X.

Si nous comparons les groupes constitués par nom générique et les groupes constitués à partir des éléments détectés par la spectrométrie de fluorescence X, nous trouvons les similitudes suivantes :

Les échantillons B26P16 et B26P18 ont les mêmes caractéristiques spectrométriques et les mêmes éléments détectés par l'analyse en fluorescence X. Cette correspondance est logique parce que les deux échantillons correspondent au même colorant Rouge Erionyl RS 140 %.

C'est aussi le cas avec le groupe B35P28 et B39P22 (Rouge Nylosane f RS 140 %) et le groupe B39P22 et B40P12 (Rouge Lanazol G). Dans le tableau la dernière colonne indique la désignation du colorant selon le CIGN. Nous constatons des éléments communs dans les colorants ayant le même C.I. mais plus également des éléments supplémentaires. Ces derniers appartiennent peut-être à la composition d'un additif. En effet certains additifs pouvaient être ajoutés pour modifier les propriétés (non colorées) du colorant telles que la solubilité par exemple. Ceci est expliqué en fin de paragraphe.

Les échantillons B39P32 et B40P12 de C.I. Réactif rouge 83 contiennent du soufre (S), du chlore (Cl) et du brome (Br). Le groupe des échantillons B8P9, B35P12 et B35P13 présente du soufre (S) et du chlore (Cl) exclusivement et correspond aux C.I. Réactif rouge 147. Les cinq échantillons qui constituent le groupe C.I. Acide rouge 57 (B35P26, B35P27, B39P27, B40P42 et B40P10) présentent du soufre (S), du chlore (Cl) et du fer (Fe). Le colorant B40P42 de Sandoz de nom commercial Aquamine contient du plomb (Pb), du brome (Br) et du cuivre (Cu). Le colorant B40P10 de Ciba de nom commercial Tectilon présente les trois éléments principaux ainsi que du zinc (Zn) et du calcium (Ca). Tous ces éléments identifiés ne modifient pas la couleur finale du colorant. Les données spectrométriques et les coordonnées colorimétriques sont très proches.

Dans le groupe C.I. Acide rouge 114 nous pouvons différencier deux sous-groupes qui correspondent à deux noms commerciaux différents : Erionyl de la marque ciba-Geigy et Nylosane de la marque Sandoz. Les quatre échantillons qui composent le groupe (B26P16, B26P18, B35P28 et B39P22) ont en commun la présence de soufre (S), de chlore (Cl) et de potassium (K). En plus, nous avons identifié du fer (Fe) dans le sous-groupe Erionyl, cet élément ne modifie pas la coloration finale du colorant. Les données spectrométriques et les coordonnées colorimétriques des échantillons du groupe C.I. Acide rouge 114 sont identiques.

Dans le tableau suivant, nous reclassons les groupes à partir du CIGN, et

indiquons le fabricant et les éléments identifiés (Tableau 4.3) :

CIGN	Fabricant	Echantillons	Nom	Éléments
C.I. Réactif rouge 83	Ciba-Geigy	B39P32	Lanasol	S, Cl, Br
	Ciba	B40P12		S, Cl, Br
C.I. Réactif rouge 147	Sandoz	B8P9	Drimarene	S, Cl
		B35P12		S, Cl
		B35P13		S, Cl
C.I. Acide rouge 57	Sandoz	B35P26	Nylosane	S, Fe, (Cl)
		B35P27		S, Fe (Cl)
		B39P27		S, Fe (Cl)
	Ciba	B40P42	Aquamine	S, Cl, Fe, Pb, Br (Cu)
Ciba	B40P10	Tectilon	S, Fe, Zn (Cl, Ca)	
C.I. Acide rouge 114	Ciba-Geigy	B26P16	Erionyl	S, Cl, K, Fe
		B26P18		S, Cl, K, Fe
	Sandoz	B35P28	Nylosane	S, Cl, K
		B39P22		S, Cl, K

Tabla 4.3: Eléments identifiés par spectrométrie de fluorescence X selon le classement par Colour Index™ Generic Names.

Nous constatons que les colorants regroupés par Colour IndexCIGN présentent en général les mêmes éléments de base, parfois d'autres éléments sont présents qui peuvent remplir la fonction d'additif sans modifier les caractéristiques du colorant.

Afin d'illustrer notre démarche, prenons par exemple le groupe C.I. Acide rouge 114, dont la structure moléculaire est la suivante (Figure 4.3) :

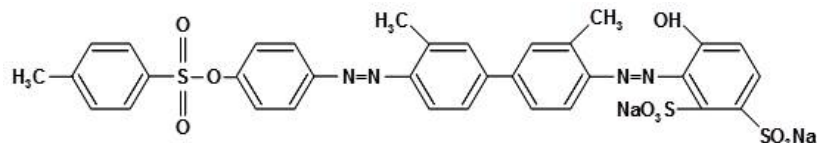


Figura 4.3: Structure moléculaire de C.I. Acide rouge 114.

Le seul élément que nous pouvons vérifier par spectrométrie de fluorescence X est le soufre (S). Les autres éléments : le carbone (C), l'hydrogène (H), l'azote (N) et le sodium (Na) ne sont pas détectables (numéro atomique inférieur à 13).

Dans le cas de C.I. l'Acide rouge 114 «Erionyl» du fabricant Ciba-Geigy, nous identifions trois éléments supplémentaires : le chlore (Cl), le potassium (K) et le fer (Fe) (B26P16 et B26P18). Pour C.I. l'acide rouge 114 Sandoz gamme « Nylosane » (B35P28 et B39P22), seuls les éléments chlore (Cl) et potassium (K) sont présents.

Ainsi on peut concevoir que chaque entreprise a pu modifier la formulation de la matière colorante d'une certaine manière pour améliorer les propriétés de leur gamme. Dans le cas de Ciba-Geigy, on peut imaginer l'ajout d'un additif ou peut être la présence d'un résidu des composés intermédiaires. Certains éléments identifiés (en marge des éléments propres à la structure de base du colorant) peuvent aussi correspondre à des produits résiduels, lors de la fabrication des produits intermédiaires des colorants.

Pendant les processus de fabrication on peut produire des remplacements électrolytiques que modifient les propriétés des colorants et qui peuvent ajouter quelques éléments dans la composition finale. Une des réactions, la plus habituelle, est la sulfonation des composés aromatiques, c'est à dire, l'introduction de groupements acide sulfonique (SO_3H). L'ajout d'un substituant acide sulfonique sur un noyau aromatique permet d'augmenter la solubilité du colorant dans l'eau. Cette caractéristique est très importante pour les colorants textiles. Si nous faisons une comparaison avec les colorants de la collection Verviers, tous sont solubles dans l'eau et contiennent du soufre (S).

Un autre type de réaction importante est l'introduction de groupes aminés. Le groupe aminé est un des plus fréquents dans la chimie des colorants car il est essentiel dans la réaction d'azocopulation⁵. Il est également présent dans plusieurs colorants du fait de ses effets auxochromes (déplacement hypsochrome ou bathochrome). La méthode, la plus adéquate, est la réduction des nitrodérivés en milieu acide, basique ou neutre. Pour la réduction en milieu acide (méthode Béchamp) la présence du fer est nécessaire, la réduction en milieu neutre emploie le bisulfure sodique ou bisulfite sodique et la réduction en milieu basique utilise un mélange de zinc (poudre) et d'hydroxyde sodique. L'identification des éléments fer, soufre

⁵Réaction de substitution électrophile aromatique.

et zinc peut indiquer une étape de réduction de nitrodérivés dans la fabrication.

La présence des éléments métalliques comme le fer ou le cuivre peut correspondre, aussi, au processus de formation des complexes métalliques durant la fabrication des colorants. Les colorants métallisables et métallifères sont de constitution particulière, susceptibles de se former par chélation avec des sels métalliques de chrome, de cuivre, de nickel, de cobalt. . . . Ces complexes peuvent être réalisés au cours des opérations de teinture sur fibres protéiniques ou cellulosiques, généralement par traitement de la fibre teinte, dans un bain bouillant de sel métallique. Ces éléments susceptibles de former des complexes métalliques peuvent être réalisés à l'usine même (cela est peut être le cas ici). Enfin, ces colorants métallifères sont utilisés pour la teinture de certaines fibres textiles dans la masse, car ils induisent une excellente solidité de la teinture.

Une autre réaction bien connue dans l'industrie des colorants textiles est la réaction d'halogénéation où un chlore (Cl) ou brome (Br) sont ajoutés aux composés aromatiques en présence d'un acide de Lewis pour obtenir des composés halogénés. Les anthraquinones halogénées sont des produits intermédiaires très appréciés pour l'obtention des colorants dans l'industrie textile.

La présence de potassium (K) peut correspondre à un matériau inerte pour grossir le colorant mais sans interaction directe sur ses propriétés, de la même façon qu'on peut le trouver dans les pigments et les colorants pour la peinture.

On peut trouver tout l'information sur les matériaux intermédiaires dans la « Partie I : 2.2.2 Les produits intermédiaires » ainsi que la bibliographie citée.

4.3.2. Résultats des analyses selon le Colour IndexTM Generic Name

Suite à nos précédentes remarques nous avons effectué une comparaison globale sur la base du CIGN. Cette indication se trouve aussi sur une deuxième étiquette non-originelle présente sur tous les flacons, probablement ajoutée par l'Institut Supérieur Industriel textile.

Les groupes sont :

- C.I. Disperse rouge 169. 1 échantillon : B6P12
- C.I. Réactif rouge 15. 1 échantillon : B40P8
- C.I. Réactif rouge 24. 1 échantillon : B40P9

- C.I. Réactif rouge 28. 1 échantillon : B34P4
- C.I. Réactif rouge 42. 1 échantillon : B40P17
- C.I. Réactif rouge 43. 1 échantillon : B40P18
- C.I. Réactif rouge 78. 1 échantillon B40P11
- C.I. Réactif rouge 83. 2 échantillons : B39P32, B40P12
- C.I. Réactif rouge 86. 1 échantillon : B8P3
- C.I. Réactif rouge 99. 1 échantillon : B34P3
- C.I. Réactif rouge 118. 2 échantillons : B35P9, B35P10
- C.I. Réactif rouge 119. 1 échantillon : B35P15
- C.I. Réactif rouge 123. 1 échantillon : B8P4
- C.I. Réactif rouge 124. 1 échantillon : B35P11
- C. I. Réactif rouge 147. 3 échantillons : B8P9, B35P12, B35P13
- C.I. Acide rouge 57. 5 échantillons : B35P26, B35P27, B39P27, B40P10, B40P42
- C.I. Acide rouge 85. 1 échantillon : B40P7
- C.I. Acide rouge 114. 4 échantillons : B26P16, B26P18, B35P28, B39P22
- C.I. Acide rouge 118. 1 échantillon : B27P24
- C.I. Acide rouge 253. 1 échantillon : B26P1
- C.I. Acide rouge 361. 1 échantillon : B39P31
- C.I. Direct rouge 37. 1 échantillon : B40P20
- C.I. Direct rouge 39. 9 échantillons : B40P21, B40P22, B40P23, B40P24, B40P25, B40P26, B40P27, B40P28, B40P29

Les échantillons sans indication du CIGN sont B17P23, B18P30 et B34P5.

La plupart des échantillons sont uniques. Nous avons constitué quatre groupes. Ces groupes sont: C.I. Réactif rouge 83, C.I. Réactif rouge 147, C.I. Acide rouge 57 et C.I. Acide rouge 114. Les groupes C.I. Réactif rouge 118 et C.I. Direct rouge 39 contiennent 2 et 9 échantillons respectivement, ce sont des échantillons d'un même type de colorant : l'écarlate Drimarene R 3G dans le cas de C.I. Réactif rouge 118 et l'écarlate direct 3 BS dans le cas de C.I. Direct rouge 39. L'étude comparative des résultats d'analyse de ces groupes est présentée ci-dessous.

Groype: C.I. Réactif rouge 83

Les produits qui ont un C.I. Réactif rouge 83 sont B39P32 (Lanasol red G) et B40P12 (Rouge Lanasol G) (Figure 4.4).

Les spectres UV-vis des échantillons B39P32 y B40P12 (Figure 4.5) sont identiques avec deux maxima d'absorption à 270 et 698 nm que sont les plus caractéristiques de ces colorants.

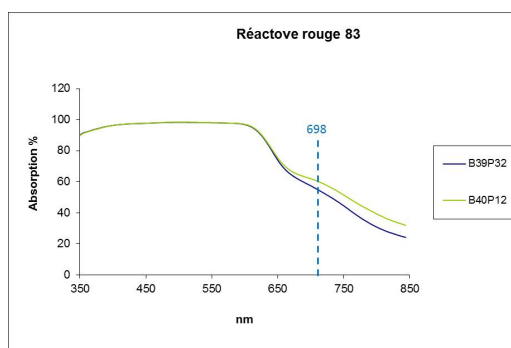


Figura 4.4: Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83.

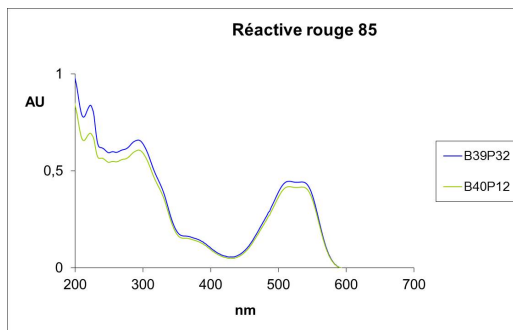


Figura 4.5: Spectres UV-vis des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83.

Sur le graphe colorimétrique, l'on peut observer les spectres d'absorption caractéristiques.

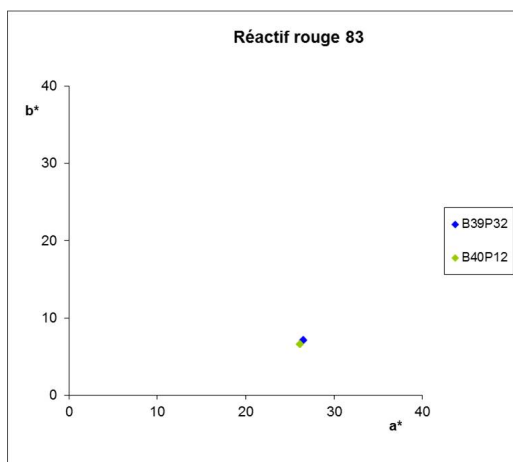


Figura 4.6: Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 83 dans le système CIE L*a*b*2000.

Nous avons montré que les deux échantillons possèdent des maxima d'absorption identiques dans la zone ultraviolette et visible et que les coordonnées colorimétriques sont très proches (Figure 4.6). Par conséquent, elles composent un groupe bien défini.

Groupe: C.I. Réactif rouge 147

Dans le groupe C.I. Réactif rouge 147, se rassemblent les produits B8P9 (Rouge brillant Drimarene R 4 BL) B35P12 (Rouge brillant Drimarene K 4 BL) et B35P13 (Rouge Drimarene R 4 BL et K 4 BL). Les maxima d'absorption se situent vers 505 et 553 nm (Figure 4.7).

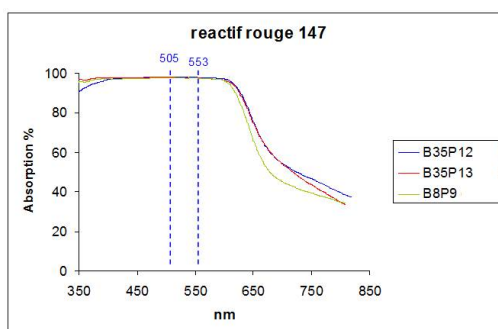


Figura 4.7: Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 147.

Dans l'étude par spectrométrie UV-vis nous remarquons que les maxima d'absorption des échantillons B35P12 et B35P13 sont identiques (Figure 4.8).

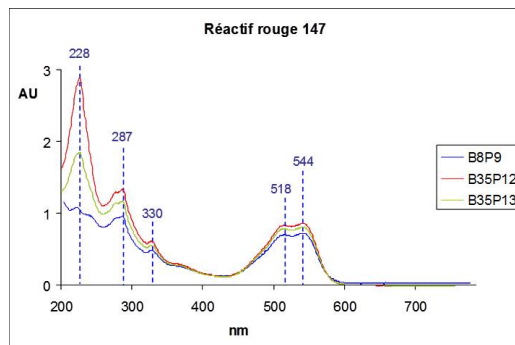


Figura 4.8: Spectres d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Réactif rouge 147.

Les colorants avec un C.I. Réactif rouge 147 sont très proches sur le graphe des données colorimétriques (Figure 4.9) ; Selon les données spectrales nous pouvons dire que ces colorants rouges sont très proches.

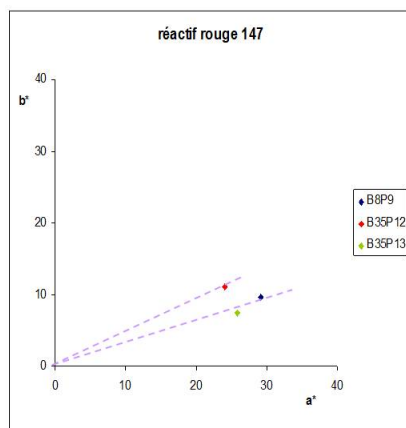


Figura 4.9: Représentation graphique des colorants du groupe Réactif rouge 147 dans le système CIE L*a*b*2000.

Les éléments identifiés par la spectrométrie de fluorescence X sont S et Cl dans les trois échantillons.

Si on observe la poudre des colorants, on peut différencier deux textures différentes dans les colorants et aussi une légère différence de couleur pour B35P12 et B35P13, qui témoignent des légères différences spectrométriques entre les échantillons de ce groupe C.I. Réactif rouge 147 (Figure 4.10).



Figura 4.10: Photographie des échantillons B8P9, B35P12 et B35P13.

Groupe: C.I. Acide rouge 57

Le maximum d'absorption caractéristique des colorants C.I. Acide rouge 57 se situe vers 510 nm avec une variation de ± 10 nm et une rupture de pente vers $640\text{nm} \pm 13$ nm (Figure 4.11). Dans ce groupe se rassemblent les produits B35P26, B35P27 et B39P27 (Rouge Nylosane E BL), B40P10 (Rouge Tectilon 3B) et B40P42 (Rouge Aquamine B SL).

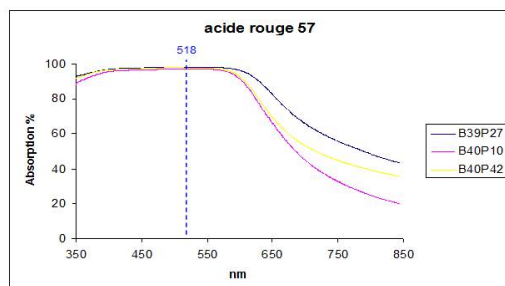


Figura 4.11: Spectre d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57.

On peut constater la concordance entre les données du spectre d'absorption UV-vis dont les absorptions maximales se situent à 249, 309 et 526 nm et celles du spectre d'absorption par réflexion diffuse (Figure 4.12).

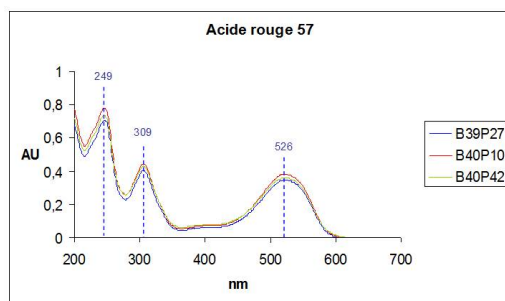


Figura 4.12: Spectre d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57.

Le groupe des échantillons B40P10 et B40P42 est distant du groupe formé par les échantillons B35P26, B35P27 et B39P27 bien que les cinq échantillons appartiennent au même groupe C.I. Acide rouge 57 (Figure 4.13). Probablement

cette différence de localisation est majeure par rapport aux différences trouvées entre les colorants des autres groupes, parce que les coordonnées colorimétriques sont calculées dans l'intervalle 380-780 nm et la plus grand coïncidence dans la courbe d'absorption est dans la zone d'absorption ultraviolette.

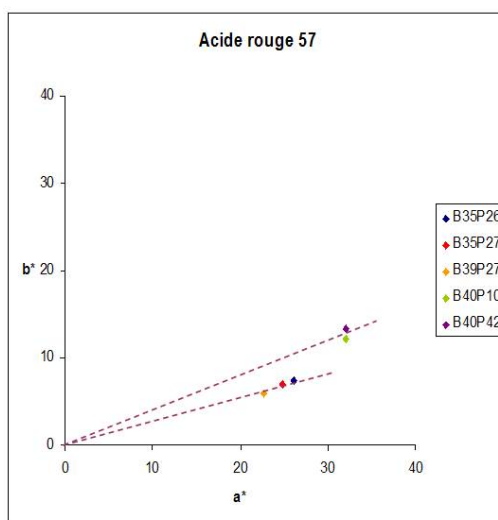


Figura 4.13: Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Acide rouge 57 selon le système CIE L*a*b*2000.

Le groupe des échantillons B35P26, B35P27 et B39P27 Nylosane contient du S, du Fe et du Cl. Les deux échantillons B40P10 et B40P42 contiennent les éléments S, Cl, Fe, Pb, Br, Cu et S, Fe, Zn, Cl et Ca respectivement. Ces éléments peuvent être les résidus d'un procédé ayant servi à modifier la coloration. Si nous observons directement la poudre des colorants nous pouvons observer que leur coloration est très proche (Figure 4.14).

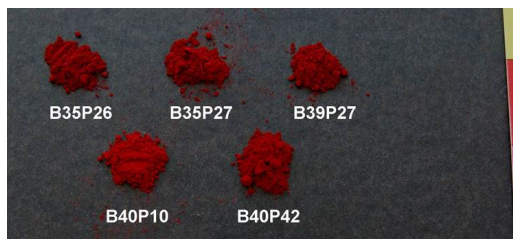


Figura 4.14: Photographie des échantillons B35P26, B35P27, B39P27, B40P10 et B40P42.

Groupe: C.I. Acide rouge 114

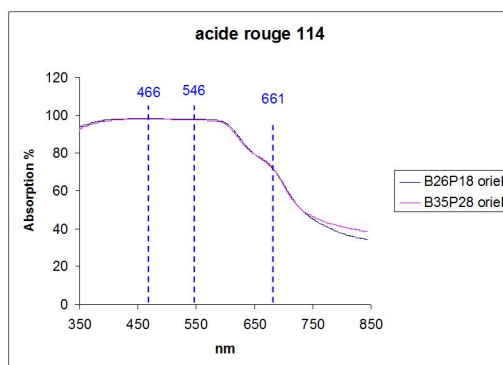


Figura 4.15: Spectres d'absorption par réflexion diffuse des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114.

Les courbes d'absorption des quatre colorants sont très proches : les maxima d'absorption caractéristiques se situent à environ 466, 546 nm avec un épaulement à 661nm ; les points d'inflexion sont à 626 et 704 nm. Ce groupe contient les produits B26P16 et B26P18 (Rouge Erionyl RS 140 %) et B35P28 et B39P22 (Rouge Nylosane F RS 140 %) (Figure 4.16).

Les maxima d'absorption dans la zone ultraviolette sont situés à 256 et 370 nm pour les quatre échantillons. Dans la zone visible du spectre il y a un maximum vers 520 nm qui correspond à tous les échantillons du groupe C.I. Acide rouge 114 (Figure 4.17).

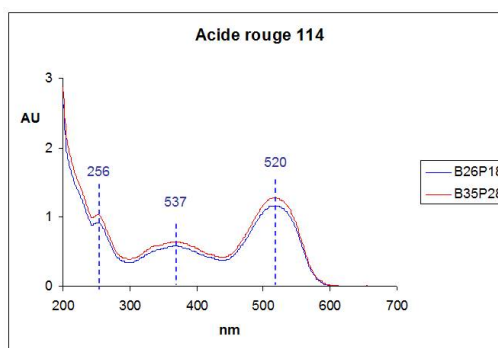


Figura 4.16: Spectres d'absorption UV-vis des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114.

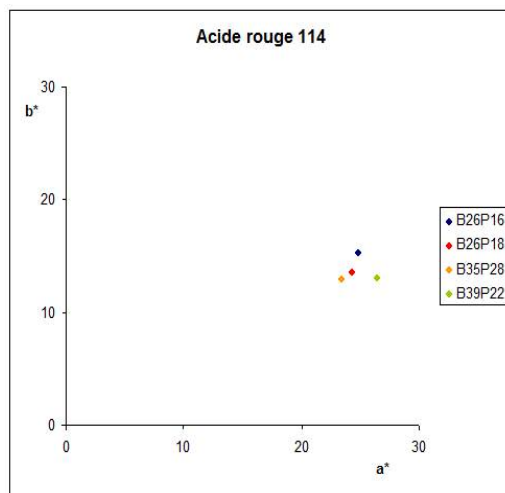


Figura 4.17: Représentation graphique des colorants du groupe C.I. Acide rouge 114 dans le système CIE $L^*a^*b^*$ 2000.

Les coordonnées colorimétriques du groupe C.I. Acide rouge 114 sont très proches avec une valeur moyenne de 25 pour a^* et de 15 pour b^* (Figure). Les données spectrales dans les zones visible et ultraviolette sont analogues. Selon l'étude par spectrométrie de fluorescence X, les quatre échantillons contiennent du S, Cl et K et les échantillons B26P16 et B26P18 contiennent en plus du fer. La présence de fer n'est pas liée à une différence de coloration finale des produits. Nous pouvons vérifier la similitude avec l'observation directe (Figure 4.18). De ce fait on peut dire que les quatre échantillons correspondent au même colorant rouge.

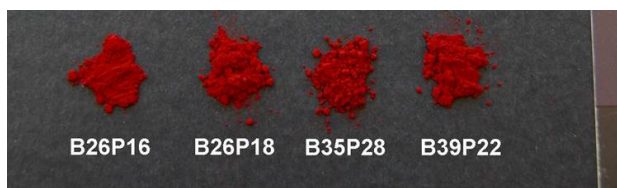


Figura 4.18: Photographie des échantillons B26P16, B26P18, B35P28 et B39P22.

Effectivement, les colorants ayant le même CIGN présentent des bandes d'absorption identiques (maximum d'absorption et point d'inflexion) dans la zone ultraviolette et visible ainsi que des coordonnées colorimétriques très proches.

Ces résultats nous amènent à penser que chaque fabricant disposait d'un nom commercial différent propre à ses produits colorants. Cependant, les colorants de même nom commercial peuvent avoir différents CIGN ainsi que le montre le tableau suivant (Tableau 4.4):

Nom commercial	Colour Index™ Generic Name	Fabricant
Terasil	C.I. Disperse rouge 169	Ciba-Geigy
Erio	C.I. Acide rouge ?	Geigy-Bale
Erionyl	C.I. Acide rouge 114	Ciba-Geigy
Nylosane	C.I. Acide rouge 57	Sandoz
	C.I. Acide rouge 114	
Xylene	C.I. Acide rouge ?	Sandoz
	C.I. Acide rouge 118	
Drimarene	C.I. Réactif rouge 28	Sandoz
	C.I. Réactif rouge 86	
	C.I. Réactif rouge 118	
	C.I. Réactif rouge 119	
	C.I. Réactif rouge 123 Réactif	
	C.I. Rouge 124	
Tectilon	C.I. Acide rouge 57	Ciba-Geigy Ciba
	C.I. Acide rouge 361	
Lanasol	C.I. Réactif rouge 78	Ciba-Geigy Ciba
	C.I. Réactif rouge 83	
Leonyl	C.I. Acide rouge 85	Ciba
Cibacrone	C.I. Réactif rouge 15	Ciba
	C.I. Réactif rouge 24	
	C.I. Réactif rouge 42	
	C.I. Réactif rouge 43	
Cibalane	C.I. Acide rouge 253	Ciba
Ecarlate direct	C.I. Direct rouge 37	Ciba
	C.I. Direct rouge 39	
Aquamine	C.I. Acide rouge 57	Sandoz

Tabla 4.4: Classement par nom commercial, Colour Index™ Generic Name et fabricant.

Selon nos résultats nous pouvons émettre les hypothèses suivantes. L'entreprise Sandoz a fabriqué les colorants Nylosane, Xylene, Drimarene et Aquamine. Le fabricant Ciba peut correspondre à l'entreprise originale ou à la fusion de Ciba et Geigy (antérieurement Ciba-Geigy), les produits sont Terasil, Erionyl, Tectilon,

Lanasol, Leonyl, Cibracrone, Cibalane et Ecarlate direct. L'entreprise Geigy a fabriqué les colorants en collaboration avec Ciba ou Bale. Les colorants sont Terasil, Erio, Erionyl, Tectilon et Lanasol. Il n'y a pas d'autres entreprises qui fabriquent des colorants avec le même nom générique.

Il est possible que le nom générique fasse référence au fabricant et au type de colorant. Par exemple « Drimarene » est un colorant fabriqué par Sandoz et qui correspond aux colorants de type réactif.

La bibliographie existante [Meybeck, 1963] [Hedayatullah, 1976] [Gilabert, 2003] confirme que, effectivement, « Drimarene » correspond à une gamme de colorants réactifs fabriqués par l'entreprise Sandoz.

Les colorants réactifs sont des produits dérivés dont la molécule colorée pouvait avoir des constitutions chimiques extrêmement variées : azoïques, anthraquinoniques, etc., mais qui, tous, possédaient une caractéristique commune au point de vue tinctorial, celle de se fixer sur la fibre, par réaction chimique, par des liaisons covalentes. Les colorants ainsi fixés étaient extraordinairement solides au lavage, à l'extraction, aux solvants, et même à certaines interventions chimiques, comme cela a été démontré récemment pour les combinaisons cellulose-colorant réactif [Gilabert, 2003].

Les premiers colorants réactifs, les Procion, puis les Cibacrone, ont été appliqués à la cellulose, mais la gamme des applications s'est assez rapidement étendue aux polyamides et à la laine. S'il n'est pas possible de connaître avec précision la composition des colorants réactifs lancés sur le marché, du moins peut-on en avoir une idée par l'étude des brevets que les protègent.

Pourtant, un colorant ayant un CIGN précis peut se retrouver sous divers noms commerciaux selon l'entreprise de fabrication (Tableau 44).

4.3.3. Constitution chimique

La connaître de la structure chimique des colorants est indispensable pour mieux déterminer leurs conditions de conservation optimales (paramètres de lumière, d'humidité et de température) mais, aussi, pour connaître les causes possibles des changements de composition et leur aspect final.

Les colorants organiques synthétiques pour textiles ont une structure chimique de base liée au groupe auxquels ils appartiennent : réactif, dispersé, acide ou direct par exemple.

Ainsi le schéma de la structure de base d'un colorant réactif est le suivant (Figure 4.19) :

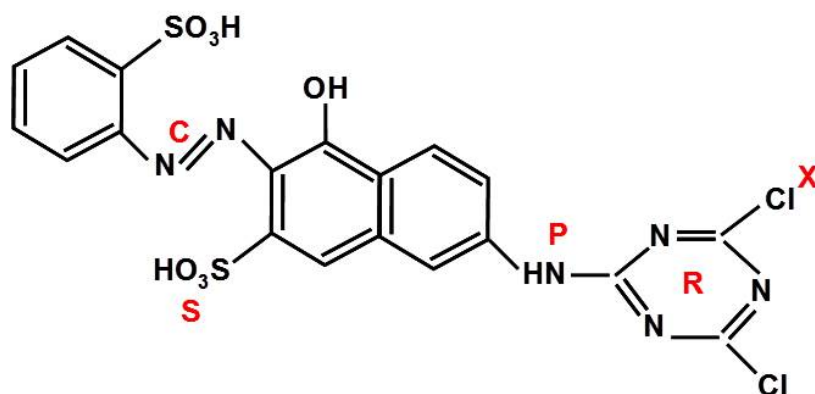


Figura 4.19: Schéma de base de la structure d'un colorant réactif.

La structure d'un colorant réactif comprend un groupe solubilisant (S), un groupe chromophore (C), un groupe de pontage (P) et un groupe réactif (R) qui contient un additif (X). Le groupe solubilisant favorise la dissolution du colorant et est habituellement un groupe $-\text{SO}_3\text{Na}$. Le groupe chromophore confère la couleur. Le groupe de pontage isole la structure du groupe réactif pour la préservation de la couleur. Le groupe réactif réagit avec les groupes $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ et $-\text{OH}$ des fibres textiles par des réactions d'addition ou de substitution (Chen, 2006).

Le nom commercial, donne quelquefois une information sur la composition chimique du colorant. Par exemple, Lanazol est un nom commercial de l'entreprise Ciba pour les colorants réactifs qui contiennent deux groupes réactifs caractéristiques : α - β - dicromopropionamide et α - bromoacrylamide [Church et col. 1998 Parte I]. Ce produit est introduit dans le commerce en 1966 [Church et col. 1998 Parte II]. Dès lors, Lanazol est un des colorants réactif les plus employés pour la teinture de la laine avec une excellente résistance à la lumière.. Le Lanazol peut être synthétisé à partir des espèces marines de Rhodophyta comme la *Odonthalia dentata*. L'entreprise Sandoz choisit, en 1959 [Chen, 2006], le nom de Drimarene

pour ses colorants réactifs [Cochet et col. 1996] et ajoute une lettre (X ou K) pour définir le type de groupe réactif du colorant [Chen, 2006].

Mais, pour connaître la structure chimique exacte d'un colorant breveté et commercialisé, il est nécessaire de consulter son Colour IndexTM Generic Name ou son Colour IndexTM Constitution Number (CICN). Par exemple, si nous regardons les indications sur le colorant C.I. Acide rouge 114, nous obtenons l'information suivante [Thinakaran et col. 2008] [Lee et col. 2003] :

- Les possibles désignations commerciaux : Rouge Erionyl RS 140 % Rouge Nylose F RS 140 %
- Les fabricants : Sandoz et Ciba
- Le type de colorant : colorant azoïque
- La formule moléculaire : $C_{37}H_{28}N_4O_{10}S_3Na_2$
- Le nom chimique (IUPAC) : Disodim-8-((3,3'-diméthyl-4'-((4-((4-méthylphényl)sulfonyl)oxy)1,1'-biphényl)-4-yl)azo)-7-hydroxy-1,3-naphthalenedisulphonate.
- La structure moléculaire (Figure 4.20) :

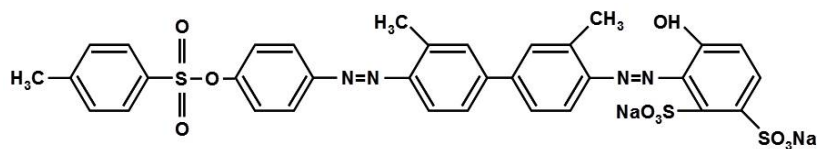


Figura 4.20: Schéma de base de la structure du colorant réactif C.I. Réactif rouge 114.

De nos jours, nous pouvons trouver nombre de catalogues qui rassemblent beaucoup d'informations sur les colorants à partir de la classification selon le système Colour Index.

Les indications les plus courantes que nous trouvons sont : la constitution chimique, la solubilité, le spectre UV-vis et les références bibliographiques.

4.4. Conclusion

Comme nous avons pu le comprendre durant cette étude, un même produit avec une base colorante bien connue peut être transformé afin d'améliorer ses qualités et rendre plus facile son application à différents textiles. Mais pour sauvegarder leurs secrets de fabrication, l'accès à l'information sur les additifs est protégée et est impossible aux personnes extérieures à la société industrielle textile.

Selon la bibliographie que nous avons consultée pendant cette recherche, nous comprenons que chaque colorant pourra posséder une affinité pour des fibres textiles de nature diverse. Chaque type de fibre peut être teinté par une gamme de colorants de différents classements tinctoriaux. Chaque classe tinctoriale a des caractéristiques et propriétés particulières qui sont appropriées à certaines applications. Les colorants directs sont d'application très facile, les colorants soufrés sont les moins chers, les colorants réactifs ont les colorations les plus pures et brillantes et les colorants azoïques insolubles sont les plus solides. Les propriétés de solidité peuvent varier entre chaque classe tinctoriale et entre colorants d'une même classe tinctoriale. De plus, la solidité est un paramètre affecté à différentes propriétés, le même colorant peut posséder une haute solidité à la lumière, par exemple, mais avoir une piètre solidité au lavage. Autre facteur important qui a provoqué la grande variété de colorants pour textile est la compétitivité des industries productrices et consommatrices des matériaux colorants.

Les études comparatives que nous avons effectuées montrent que les colorants textiles de la Collection Verviers peuvent être groupés selon le Colour Index parce que ce classement permet de regrouper des colorants dont les qualités physiques sont très proches. Les différences proviennent de la nomenclature qui s'est modifiée à l'occasion de l'évolution de la marque commerciale, avec la transformation des produits pour améliorer ses qualités, la création de nouveaux brevets ou tout simplement l'actualisation du nom pour des raisons de marketing [Barnett, J., 2007].

La caractérisation que nous avons faite est la base pour l'étude et le classement de la collection des colorants de l'Institut Supérieur Industriel de Verviers. Le protocole de mesure décrit ici pourra désormais servir de protocole de référence afin de continuer le recensement et la caractérisation des autres colorants de la collection.

L'identification de ces colorants donne des informations de grande importan-

ce dans le champ de l'histoire industrielle moderne, l'archéométrie et l'évolution chimique des colorants organiques synthétiques.

Actuellement on peut trouver des catalogues qui contiennent une grande quantité d'information sur les produits colorants classés à partir de leur nom commercial ou leur colour index. Mais nous croyons que la recherche de l'information référent aux colorants synthétiques doivent être approfondies avec leur caractérisation par des méthodes d'analyses chimiques qui indiqueraient la composition exacte du produit. Il s'agit ici de arriver au même niveau de connaissance et de compétence que avec les colorants organiques naturels.

Capítulo 5

Identification of synthetic dyes in early colour photographs using capillary electrophoresis and electrospray ionization – mass spectrometry

RESUMEN

En este capítulo se ha empleado electroforesis capilar acoplada a un detector de diodos en línea (CE-PDA) y un detector de masas con ionización por electronebulizador (CE-ESI-MS) para la separación e identificación de 23 colorantes orgánicos sintéticos, los más empleados en autocromos, las primeras fotografías a color de inicios del siglo XX. Tanto el grupo de los colorantes catiónicos como los aniónicos han podido ser separados en 15 min usando una metodología simple por CE-PDA. Esta fue empleada como paso previo para el desarrollo de una metodología por CE-ESI-MS optimizando los parámetros más relevantes del detector y la interfase. Los parámetros que más influencia ejercieron sobre la sensibilidad de la detección fueron la composición del líquido adicional, la presión del gas nebulizador, el flujo del gas de secado y su temperatura. Estos fueron optimizados en modo positivo y negativo para los colorantes catiónicos y aniónicos respectivamente, pudiendo rea-

lizar ambos de manera sucesiva sobre una única muestra para detectar la presencia de colorantes de ambos grupos.

La aplicación del procedimiento analítico desarrollado por CE-ESI-MS se realizó sobre una base de filmcolor, la última versión del autocromo. Los resultados demostraron la presencia de cuatro colorantes catiónicos y tres aniónicos. Además se observaron las trazas de otros cuatro posibles colorantes sobre este mismo filmcolor.

ABSTRACT

Capillary electrophoresis with photodiode array detection (CE-PDA) and with electrospray ionisation-mass spectrometry (CE-ESI-MS) was used for the separation and the identification of 23 synthetic organic dyes, among those used in early 20th century colour photographs such as autochromes. Both cationic and anionic dyes could be separated within 15 min using a single CE-PDA method. The method was used as the basis to develop a CE-ESI-MS methodology through the optimization of the relevant ESI and MS parameters. Sheath liquid composition, nebulising gas pressure, drying gas flow rate and drying gas temperature were found to influence the sensitivity of the detection. These parameters were optimized in positive and negative ion modes for cationic dyes and anionic dyes, respectively. The two analyses could be carried out successively on a single sample.

In view of the application to cultural heritage objects, the CE-ESI-MS analytical procedure was applied to identify the dyes in a filmcolor artefact, late version of the autochrome. The results complemented and enhanced current knowledge as four cationic dyes and three anionic dyes were identified. Four additional dyes are proposed as possibly present as traces.

RÉSUMÉ

L'électrophorèse capillaire d'une part en détection simple UV (barrette de diodes) (CE-PDA) et d'autre part en couplage à la spectrométrie de masse par électronebulisation (ESI-MS) ont été utilisées pour la séparation et l'identification de 23 colorants organiques synthétiques fréquemment employés dans la fabrication d'autochromes, les premières photographies en couleurs du début du 20e siècle. En CE-PDA une méthodologie unique a permis la séparation en 15 min des colorants cationiques et anioniques. Cette technique a été utilisée pour préparer le

développement d'une méthodologie ultérieure par CE-ESI-MS où les paramètres ESI et MS les plus pertinents ont été optimisés. Les paramètres de composition du liquide additionnel, pression du gaz nébulisant, débit du gaz de séchant et sa température ont montré la plus grande influence sur la sensibilité de la méthode. Les paramètres ont été optimisés en mode MS positif et négatif respectivement pour les types de colorants cationiques et anioniques. Les deux analyses peuvent être réalisées successivement sur un unique échantillon.

En vue de l'application aux objets culturels, le procédé analytique par CE-ESI-MS a été effectué sur un film "filmcolor" non exposé, version plus tardive de l'autochrome. Les résultats ont permis d'incrémenter les connaissances actuelles sur la composition en colorants synthétiques de ces objets par la détection de 4 colorants cationiques et de 3 colorants anioniques. En outre, la présence à l'état de traces sur le même filmcolor de 4 autres colorants est proposée.

5.1. Introduction

For the past thirty years, the interest for the preservation of photographic materials has intensified [VV.AA. 1982]. The knowledge of the structure and composition of these artefacts is essential to design appropriate approaches for their preservation and conservation [Lavédrine and Gandolfo, 2009].

The autochrome is an early colour photography process based on additive colour mixing theory. It is derived from an original idea from Louis Ducos du Hauron who, in “Colors in Photography” (1869), described the principle of using a screen made of three thin colour layers to produce a full colour slide. In 1894, John Joly and, two years later, James McDonough, produced the first photographic colour process based on this principle [Lavédrine and Gandolfo 1993]. The autochrome process was patented for the first time in 1903 in France by the Lumière brothers with further revisions in 1904. It was introduced commercially in 1907. The autochrome Lumière was among the first techniques of colour photography to be industrially produced, which was easy to use and presented attractive results with delicate colour rendering. In replacement of the heavy and brittle glass support of autochrome plates, a film based autochrome called filmcolor was launched in 1931 but was short-lived, as Kodak and Agfa began to produce multi-layer subtractive colour films. Until the 1930’s autochromes were used by ordinary amateur photographers despite their relatively high price, low sensitivity to light and lack of a quality method to secure the prints [Lavédrine and Gandolfo, 2009]. The process encountered an enormous success among professionals and amateurs alike, and thousands of autochromes are now preserved in art collections such as at the National Geographic Society in Washington (USA) and the Albert Kahn museum in Boulogne (France).

In replacement of the glass plate, a film based photograph called Film color was launched in 1931 albeit it was short-lived, as Kodak and Agfa began to produce multi-layer subtractive colour films.

An autochrome consists of a colour mosaic of microscopic granules (10 μm to 15 μm in diameter) made of potato starch, coloured with the three primary colours red–orange, blue–violet and green using synthetic dyes, and mixed together. The structure and composition of an autochrome is represented in Figure 5.1.

A glass plate was spread with a sticky varnish layer made of the resin portion of dammar. It was then powdered with the dyed starch to create a colour mosaic.

Then, lampblack powder was applied to fill the void spaces. The starch grains were flattened by applying pressure (around 5000kgcm^{-2}) to limit the light diffusion and increase the transparency of the layer. A second varnish layer made of dammar, castor oil and cellulose nitrate was applied to protect the colour mosaic and finally, the plate was covered with a light-sensitive emulsion (panchromatic silver bromide). A final varnish layer was applied, which composition was a recipe of each photographer [Lavédrine and Gandolfo, 2009]. The autochrome plate was placed in to the camera with the glass side nearest the lens. When the photograph was taken, the light came through the lens and the glass back in of the plate, and was filtered by the coloured starch mosaic before reaching the photographic sensitive emulsion [Robert, 2007] [Lavédrine, Waldthausen and Gannin, 2005]. After chemical processing, the image could be viewed directly in transmitted light or projected like a slide. The filmcolor photograph studied in this chapter, which was produced in 1950–1951, presents the same layer structure and composition.

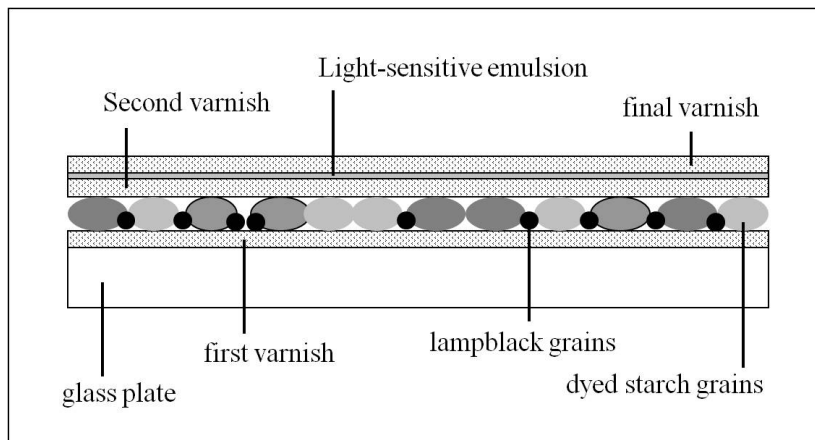


Figura 5.1: Structure and composition of an autochrome plate.

Little information was published about the dyes used in autochromes at the time of their production because the process remained proprietary. In 1939, Sezewetz, a chemist who worked with the Lumière brothers, revealed some of these

dyes [Sayewetz, 1939]. Recently, additional information was compiled by Lavédrine and Gandolfo [Lavédrine and Gandolfo, 1993] based on their research of the Lumière archives. All the colourants mentioned in these documents are synthetic dyes.

Various analytical techniques have been developed for the characterization of synthetic dyes, but capillary electrophoresis (CE) is perhaps the best alternative due to the many advantages it offers over other separation techniques. CE provides high separation efficiency, selectivity and resolution power combined with short analysis time, simple sample preparation (no derivatisation), little solvent consumption and extraordinarily small sample volume. Indeed, a major requirement for conservators, conservation scientists, archaeologists and art historians is sample miniaturization in order to observe the physical integrity of the cultural heritage artefacts under study. However, one should also mention the corollary disadvantages, as for example the low sample load-ability (nL range) and the small UV light path length of the detector cell in the case of the photo diode array (PDA), the latter being sometimes circumvented with the use of special detection setups such as bubble cells. Methods based on CE with various detection systems for the identification of synthetic dyes have been proposed. Variable wavelength UV and PDA are by far the most commonly used for food [Suzuki et al., 1994] [Liu et col., 1995] [Masár et al., 1996] [Costa, Horton and Margolis, 2000] [Pérez-Urquiza y Beltrán, 2000 y 2001] [Ryvolová et col., 2007] [Mejía et al., 2007], textiles [Farry et al., 1997] [Sirén and Sulkava, 1995] and pen inks dyes [Zlotnick and Smith, 1998] [Vogt et al., 1997]. A few accounts can be found on laser-induced fluorescence detection (LIF) for food dyes [Kuo, Huang and Hsieh, 1998], as well as electrochemical detection (ED) [Peláez-Cid, Blasco-Sancho and Matysik, 2008] and mass spectrometry (CE-MS) for textile dyes [Poger, Richardson and Baughman, 2000] [Zhao et col., 2007]. The characterisation of dyes in early colour photographs has rarely been studied to the exception of Lavédrine's work in 1992 [Lavédrine, 1992].

The aim of the present research was to develop a methodology primarily for the identification of synthetic dyes used in early colour photographs, but that could also be applicable to other cultural heritage materials such as textile, paper and modern photographs, while minimizing sampling.

The methods proposed in this study allowed the separation and identification of fourteen cationic dyes and nine anionic dyes, which can be found in early colour photographic artefacts such as the autochrome Lumière and the filmcolor.

A single method was developed using CE-PDA as a screening technique in order to appraise the separation and identification of the largest possible number of cationic and anionic dyes among those used for autochromes. The optimisation of the separation conditions was used to develop a more dedicated methodology using CE coupled with electrospray ionisation-mass spectrometry detection (CE-ESI-MS). The hyphenation with MS allows for a much greater performance than PDA as even when the peaks are not fully resolved on the total ion electropherogram (TIE), the identification of the dyes can be made using the mass over charge ratio (m/z) of the ions produced.

This research was made in the CRC (MNHN, CNRS in Paris (France) in collaboration and under the leadership of the researcher B. Lavédrine and A-L Dupont. The discussion and the interpretation of the results was carry out with the help of B. Desmazières from LAMBE-CNRS, Evry (Francia). Also it has been published: A. López-Montes, A-L. Dupont, B. Desmazières, B. Lavédrine, *Talanta* 114 (2013) 217-226.

5.2. Experimental

5.2.1. Materials

The following chemicals were used: ethanol (absolute, >99 %, Merck), methanol (HPLC grade, >99.99 %, Fischer), 2-propanol (99.5 %, Sigma-Aldrich), acetonitrile (LiChrosolv, >99.9 %, Merck), sodium hydroxide (1N, Merck). Formic acid (≥ 98 %), acetic acid (≥ 99.5 %), ammonium carbonate (≥ 30 % NH₃) and ammonium acetate (98 %) were from Sigma-Aldrich. Water was Milli-Q plus (Millipore, Bedford, MA, USA).

Synthetic dyes can be cationic, anionic or non-ionic, but only those pertaining to the two first types were used as reference samples. They were chosen based on existing information on autochromes dyes [3,6]. Whenever available, the dye content is indicated in parenthesis. Their abbreviations, used on ward for convenience, as well as their natural charge are marked in parenthesis. They were: Methylene Blue (MB, +) (C.I. 52015) and Crystal Violet (CV, +) (C.I.42555) from R.A.L. (Martillac, France); Erythrosine B (ERB, -) (C.I.45430) from Certistain-Merck (Darmstadt, Germany); Patent blue VF (PBVF, -) (C.I.42045), Eosin Y (EY, -) (C.I.45380), Eosin B (~95 %, EB, -) (C.I.45400), Brillant Green

(BG, +) (C.I.42040), Auramine O (~80 %,AO, +) (C.I.41000), Chrysoidine G (CG, +) (C.I.11270), Ethyl Violet (EV, +) (C.I.42600), Rhodamine B (RHB, +) (C.I.45170), Rhodamine 6G (RH6G, +) (C.I.45160), Thioflavin T (TT, +) (C.I.49005), Chrysophenine (~65 %,CH, -) (C.I.42895), Diiodofluorescein (DII, -) (C.I.45425:1) and Rose Bengal (RB, -) (C.I. 45440) from Aldrich (St.Quentin Fallavier, France); Patent Blue V (calcium salt) (PBV, -) (C.I.42051) from Fluka (St. Quentin Fallavier, France); Basonyl Blue (BB, +) (C.I.42563) and Flexo Blue 810 (FB, +) (C. I. 42025) from BASF; Victoria Blue R (~80 %, VBR, +) (C.I.44040) and Erythrosine B:2 (ERB2, -) (C.I.45430:2) from Sigma (St.Quentin Fallavier, France); AuramineG (AG, +) (C.I.41005) from Gurr Microscopy Materials (Poole,UK). Victoria Blue B (VBB, +) (C.I.44045) was provided from in-house MNHN. Chemical structures can be found in “Introduction”, section 1.4.2.1.

5.2.2. Sample preparation

Work solutions of reference dyes were prepared by dissolving 0.5 mg of dye powder in 10 mL of water, methanol or water: methanol (1:1).

Sampling on the filmcolor artifact was carried out as follows. Ten square millimeters of the surface containing the dyed starch layer and upper varnish layers were scratched using a scalpel, and transferred in 3 mL ethyl acetate in order to solubilise the varnish. After 10 min the mixture was filtered (PTFE, 0.45 μm pores) using a membrane filter and filter holder. Once dry, the filter, which had retained the dyes particles, was introduced in methanol:water (1:1) and heated during 30 min at 70 °C in a heating block unit (Pierce). After removing the filter the solution was centrifuged at 9000 rpm during 3min and evaporated to dryness. The mass of dyes recovered after this purification step was estimated to 0.5 μg at most. Finally, the dry residue was dissolved in 25 mL of water: methanol (1:1).

5.2.3. Analytical procedures

5.2.3.1. UV–visible spectroscopy

A Unicam UV/Visible spectrometer UV₂ was used across the range 190–700nm. The system operation and data acquisition were performed using the software VISION pro. The UV–vis spectra allowed selecting the most appropriate solvent for each

dye and the specific detection wavelengths for the CE separation. The dye concentrations were adjusted to provide non-saturated absorption maxima.

5.2.3.2. CE

Electrophoretic separations were performed with a P/ACEMDQ (Beckman Coulter) equipped with a PDA detector (200–590 nm) (Beckman Coulter). The software 32Karat (Beckman Coulter) version 5.0 was used for data acquisition and processing.

Separations were carried out using a fused-silica capillary of 50 μm internal diameter, which was cut to a length of 60cm (50cm effective length to the detector window) for CE-PDA and 62cm for CE-ESI-MS. Between analyses, the capillary was washed with NaOH 0.1M (3 min) and deionised water (1min), followed by the electrolyte (3 min). After each analysis, the capillary was rinsed with deionised water (2 min).

The electrolyte was changed between series of three runs. The electrolyte consisted of 50 mM ammonium acetate with 15 % (v/v) acetonitrile, and was adjusted to pH 9 with NaOH 1M. It was filtered through a 0.22 μm pores PTFE syringe filter prior to use. The separation was performed at 20°C. The applied voltage was 20kV, resulting in a current of 63 μA . The injection was made in hydrodynamic mode at 1 psi for 4s. Analysis time was 20min.

The detection wavelength of each dye was selected according to the UV-vis features. Peak identification was done using migration times (t_M) and UV spectra. Brilliant Green was injected at the beginning of each working day in order to check for day-to-day variations. Triplicate samples were prepared and triplicate analyses of each sample were carried out (relative standard deviations corresponding to interday and intraday variations—RSD—is calculated on n=9).

5.2.3.3. ESI-ITMS

A mass spectrometer with anion trap analyser (ITMS) equipped with an electro spray ionization (ESI) source (HCT-Ultra, Bruker Daltonics) was used. The pumping system is composed of a rough pump and two turbomolecular pumps. Fore vacuum was 4.1–4.2 mbars and high vacuum was 9×10^{-6} mbars. The detection mass range is m/z 50-3000 amu (standard mode). The mass calibration was carried out once at the beginning of the work, both in positive and in negative

ion modes, over the entire mass range using seven standard compounds (ESI tune mix, Bruker). The software Compass 1.3 for Esquire/HCT was used for data acquisition and analysis. CE-MS coupling was carried out using a sheath liquid coaxial ESI interface (Agilent Technologies).

The following MS parameters were used: a capillary voltage of 4000 V (capillary exit voltage of 121 V), end plate offset of -500 V and skimmer voltage of 40 V. The maximum accumulation time was 50.00 ms and the ‘smart target’ (maximum number of ions in the trap) was set to 5000. The optimal protruding length of the CE capillary from the sprayer needle, which is reported to influence the spray performances [Mokkadem et al., 2008], was between 0.03 and 0.3 mm. The mass spectra were acquired in ultra scan mode (scans per second 26000 m/z s^{-1} , resolution 0.4 FWHM (Full-Width at Half-Maximum) / m/z). Both positive and negative ion modes were used successively upon two consecutive injections of the same sample for cationic dyes and anionic dyes respectively. MS² was performed in positive ion mode only.

Positive ion mode was used over the scan range from 200 m/z to 800 m/z with a target mass set to m/z 400. The sheath liquid consisted of methanol/water (1:1) with 0.5 % (v/v) of formic acid, and was dispensed with a syringe pump at a flow-rate of 400 $\mu\text{L h}^{-1}$. The nebulising gas (N_2) pressure was set to 5 psi. Drying gas temperature was 300°C and flow-rate was 4 L min^{-1} .

Negative ion mode was used over the scan range from 200 m/z to 1400 m/z with a target mass set to m/z 800. The sheath liquid was 2-propanol/water (1:1) and its flow-rate was 400 $\mu\text{L h}^{-1}$. The nebulising gas pressure was set to 7 psi. Drying gas temperature was 300 °C and flow-rate was 4 L min^{-1} .

Signal intensity, peak area and height, signal to noise ratio (S/N’) and resolution were observed as basis for the optimization of the sensitivity of the detection. The optimisation was carried out with separate single injections of each dye. Precision was evaluated with the RSD calculated on tm.

5.3. Results and discussion

5.3.1. UV-vis

The wavelengths selected for detection in CE-PDA were the absorption maxima (λ_{max}) of each dye, except for the group of blue-violet dyes as their λ_{max}

was around 600–700 nm, which is outside the PDA range. The second absorption region, around 250– 350 nm, was thus used. Table 5.1 shows the λ_{\max} of each dye. The detection wavelength used is marked in bold.

Dye	Abbrev.	Colour Index	CAS No.	Hue	Solvent	Max. Absorbance (nm)	Migration time	
							min	RSD % (n=9)
Thioflavin T	TT	49005	2390-54-7	yellow	H ₂ O	254; 412	3.64	0.54
Auramine O	AO	41000	2465-27-2	orange-yellow	H ₂ O	250; 370; 432	3.78	0.52
Auramine G	AG	41005	2151-60-2	orange-yellow	H ₂ O	249; 370; 432	3.79	0.52
Flexo Blue 810	FB	42025	3521-06-0	blue-purple	H ₂ O	302; 410; 559 ; 631	3.96	1.51
Crystal Violet	CV	42555	548-62-9	blue-purple	H ₂ O	249; 303; 522 ; 591	3.96	5.05
Brilliant Green	BG	42040	633-03-4	green	H ₂ O	282; 318; 426 ; 624	4.01	0.99
Rhodamine 6G	RH6G	45160	989-38-8	red	CH ₃ OH	246; 347; 524	4.07	0.49
Victoria Blue R	VBR	44040	2185-86-6	blue	H ₂ O/CH ₃ OH	214; 247; 593 ; 611	4.07	0.24
Ethyl violet	EV	42600	2390-59-2	Blue-purple	H ₂ O	250; 310; 587 ; 600	4.14	0.72
Rhodamine B	RHB	45170	81-88-9	Red-purple	H ₂ O	259; 354; 550	5.52	9.05
Chrysoidine G	CG	11270	532-82-1	orange	H ₂ O	246; 278; 426	5.56	1.79
Basonyl Blue	BB	42563	2185-87-7	blue	CH ₃ OH	298; 448; 593	5.68	3.16
Methylene Blue	MB	52015	61-73-4	blue	H ₂ O/CH ₃ OH	246; 297 ; 612; 664	5.70	1.75
Victoria Blue B	VBB	44045	2580-56-5	blue	CH ₃ OH	251; 557 ; 614	7.35	1.36
Patent Blue VF	PBVF	42045	129-17-9	blue	H ₂ O	310; 409; 558 ; 640	7.98	1.25
Patent Blue V	PBV	42051	3536-49-0	blue	H ₂ O	310; 410; 565 ; 638	9.16	1.09
Chrysophenine	CH	24895	2870-32-8	yellow	CH ₃ OH	251; 381	10.40	1.92
Rose Bengal	RB	45440	632-69-9	red	H ₂ O	259; 550	12.45	0.40
ErythrosineB	ERB	45430	568-63-8	red	H ₂ O	261; 351; 550	12.49	0.80
ErythrosineB:2	ERB2	45430:2	15905-32-5	red	CH ₃ OH	249; 314; 524	12.56	0.79
Eosin Y	EY	45380	548-26-5	red	H ₂ O	254; 301; 342; 515	13.53	3.69
Diiodofluorescein	DII	45425:1	31395-16-1	red	CH ₃ OH	253; 302; 507	14.78	0.20
EosinB	EB	45400	548-24-3	red	CH ₃ OH	274; 516	15.24	3.93

Tabla 5.1: Dyes specification max (optimum wavelengths for the identification is marked in bold) tm and RSD in CE-PDA (optimised conditions) of the synthetic dyes (separate single injections). Capillary: 50 μ m i.d., L= 60 cm; electrolyte: 50 mM ammonium acetate with 15 % (v/v) acetonitrile pH 9; temperature 20 °C; applied voltage 20 kV; analysis time 20 min, hydrodynamic injection at 1 psi for 4 s.

5.3.2. Optimisation of the CE-PDA method

To this date, CE methods proposed in the literature have been developed for the identification of either cationic or anionic dyes. In a first screening method a simultaneous identification of a large number of both types of dyes seemed an important goal to reach, mostly, as explained earlier, regarding the sampling constraints related to the targeted application to cultural heritage objects.

The optimization was carried out with six cationic dyes (TT, CG, BG, CV, RHB, RH6G) and eight anionic dyes (CH, RB, DII, EB, EY, ERB, ERB2, PBV) dissolved in water:methanol (1:1). Each experimental and instrumental variable were investigated separately and each dye was examined individually.

5.3.2.1. Electrolyte

The electrolyte was chosen among those compatible with an IT mass analyser, in view of the use of CE-ESI-MS. Based on published work where a non-aqueous electrolyte for the identification of synthetic dyes was used [Kuo, Huang and Hsieh, 1998], ammonium acetate dissolved in several organic solvents (methanol, acetonitrile, ethanol, 2-propanol and acetonitrile:methanol) was tested at different concentrations (ranging from 10mM to 60mM). Also, the addition of acetic acid and formic acid was tested up to 20 % (v/v). A good separation of the cationic dyes was achieved with 55 mM ammonium acetate and 5 % (v/v) acetic acid in methanol, but none of the conditions tested were suitable for the separation of the anionic dyes. Another electrolyte had thus to be found.

Based on published results [Fakhari et al., 2006] [Zhao et al., 2007], ammonium acetate in water was tested at pH 9 at 20, 50 and 70 mM. High ionic strength leading to slower electroosmotic flow (EOF), 70 mM increased the analysis time up to 13 min for the six dyes tested and additionally raised the current to 125 μA , which generates Joule heating. Moreover, as ESI is prone to analyte signal suppression by high buffer concentrations, the latter was avoided in view of the future use of CE-ESI-MS [Hommerson et al., 2011]. Conversely, 20 mM led to poor peaks shape and poor resolutions. The concentration of 50 mM provided the best compromise between resolution and analysis time while a reasonable current around 60 μA was achieved (Figure 5.2).

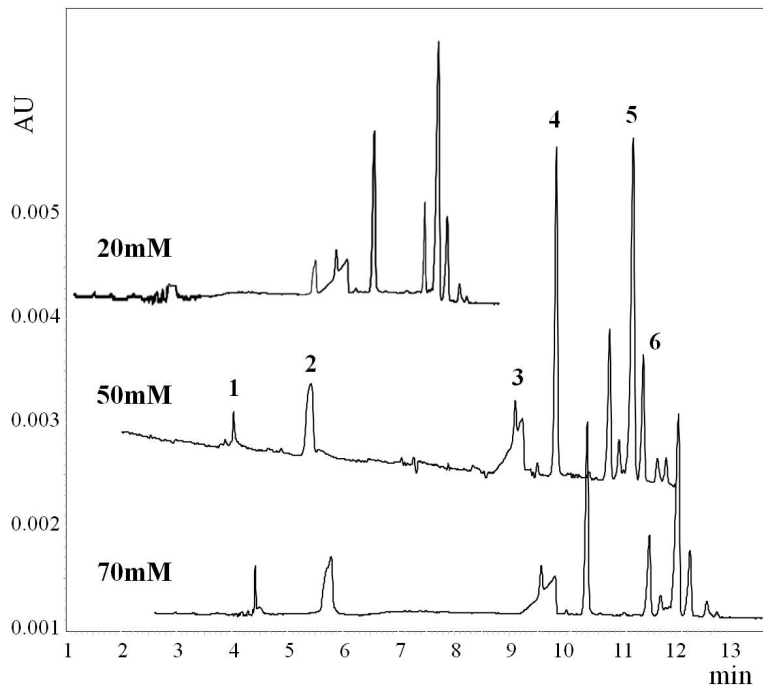
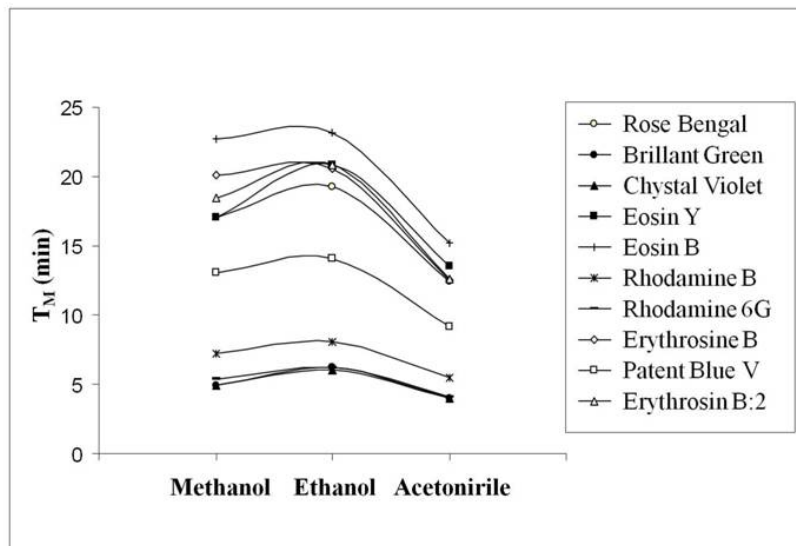


Figura 5.2: Electropherograms obtained with a mixture of two cationic dyes – (1) TT: Thioflavin T and (2) CG: Chrysoidine G- and four anionic dyes – (3)CH: Chrysophenine, (4) RB: Rose Bengal, (5) DII: Diiodofluorescein and (6) EB: Eosin B - with different concentrations of the running buffer.

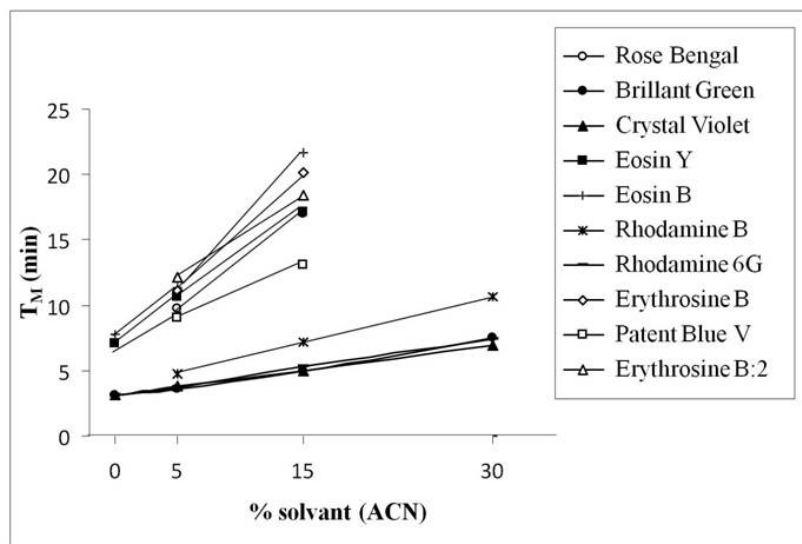
The effect of pH was investigated in the range 7–11 in one unit steps and a pH 9 allowed a good compromise between resolution and analysis time for the cationic and anionic dyes.

Methanol, ethanol and acetonitrile (5 %, 15 % and 30 %, v/v) were tested as organic modifiers in the electrolyte (Figure 5.3). The electrophoretic migration is affected by the addition of solvent due to the change in viscosity, size of the dissolved analytes and protonation equilibria (pKa values), as well as the interaction between analytes and background electrolyte additives [Scriba, 2007]. Acetonitrile

at 15 % (v/v) shortened the analysis time to 16 min for the fourteen cationic and anionic dyes without loss in resolution compared to the other solvents tested in equivalent percentages (for which analysis times were up to 23 min). Lower percentage of solvent, and no solvent at all, did not provide enough resolution, while 30 % solvent considerably lengthened the analysis. The optimized electrolyte was thus composed of 50 mM ammonium acetate at pH 9 with 15 % (v/v) acetonitrile.



a)



b)

Figura 5.3: Optimisation of the running buffer: nature of the organic solvent (a) and acetonitrile concentration (b).

5.3.2.2. Instrumental parameters

The temperature variation in the range 15–35°C showed that above 25°C resolution worsened. The temperature selected was 20 °C, mostly for energy saving concerns.

The voltage which allowed obtaining shortest analysis time while maintaining a good resolution was 20 kV (range tested 10–30 kV). This resulted in a current of 63 μ A.

Hydrodynamic injection was used for better reproducibility of the sample plug volumes since conductivity, which is the basis of the electrokinetic injection, varies widely in samples from real historic artefacts targeted in this study. Injection pressure and time were tested in the range 0.5–3 psi and 4–12 s. As expected, peak area and peak height increased but resolution decreased with increasing injection pressure and time. A compromise was found with 1psi and 4s, which allowed obtaining symmetrical peaks.

The electropherograms obtained for each dye under these optimized conditions are presented in figure 5.4. Table 5.1 gathers the migration time (and RSD) of each dye injected separately. All the dyes could be discriminated based on their t_m and UV absorption features. For instance, even though RB and ERB migrated consecutively very closely and were both detected at 550 nm, they could be distinguished using their full UV spectra: RB presents two λ_{max} (259 nm and 550 nm) and ERB has three λ_{max} (261 nm, 351 nm and 550 nm). The separation was quite fast, with t_m of the cationic dyes ranging between 3.64 min (TT) and 5.56 min (CG), and t_m for the anionic dyes, ranging from 7.98 min (PBVF) to 15.24 min (EB).

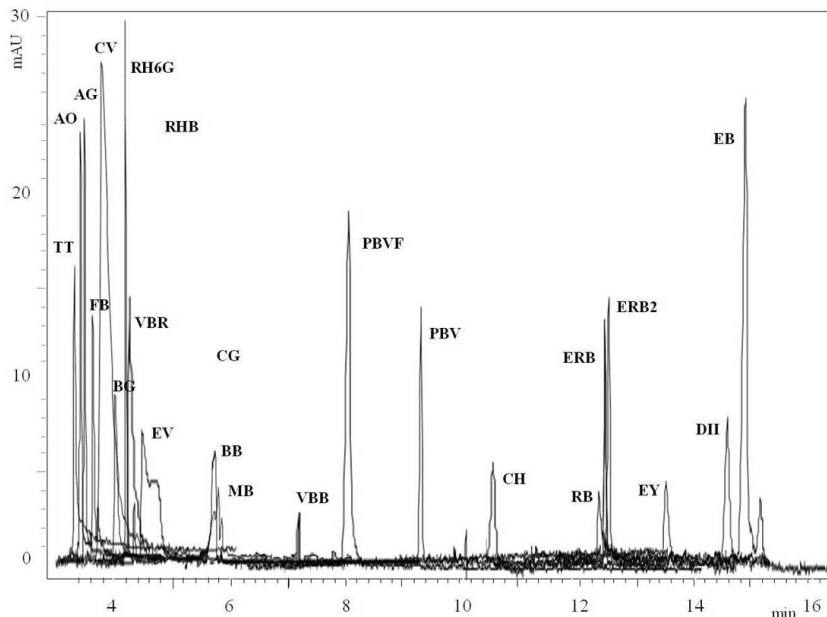


Figura 5.4: Electropherograms of the dyes (separate single injections): Capillary: 50 μm i.d., L= 60 cm; electrolyte: 50 mM ammonium acetate with 15 % (v/v) acetonitrile pH 9; temperature 20°C; applied voltage 20 kV; analysis time 20 min, hydrodynamic injection at 1 psi for 4 s, PDA detection.

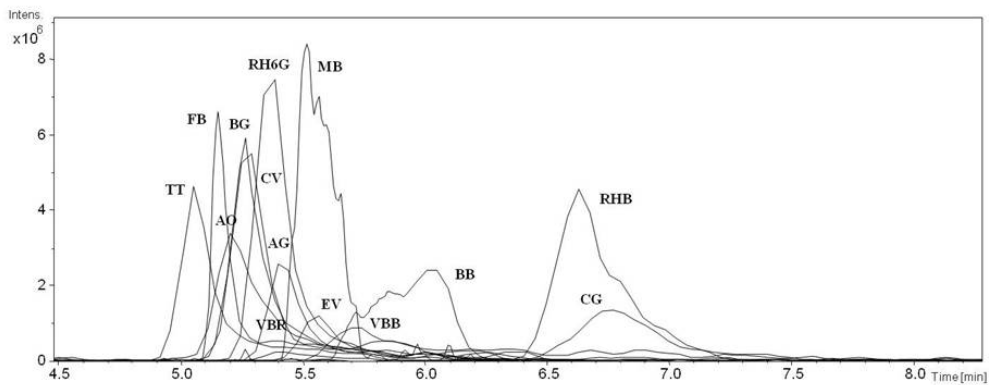
5.3.3. Optimisation of the CE-ESI-MS methodology

Positive ion mode detection is most often used in ESI-MS several factors make negative ion ESI more challenging, one being the difficulty to produce stable, negative ions to carry the excess negative charge at low analyte concentrations [Cech and Enke, 2001].

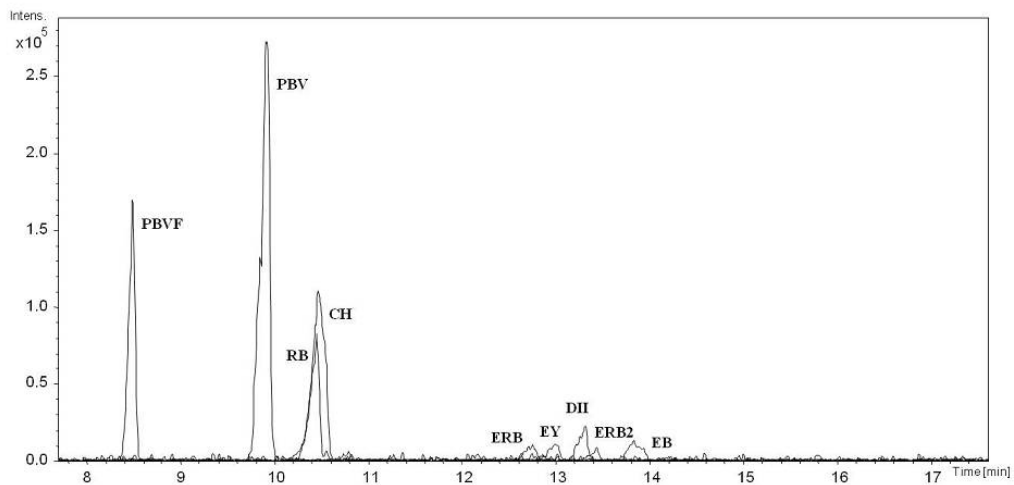
Anionic dyes did not yield a markable signal in positive ion mode and negative ion mode had to be used. Therefore both modes were used alternatively on the same sample.

Comparing figure 5.5, it appears that the migration times are occasionally

different in CE-PDA and CE-ESI-MS. The small difference in capillary length can be one explanation, but the main reason reported in the literature to modify migration time in CE-ESI-MS is the suction effect which, in the coaxial ESI configuration, stems from the nebulising gas and the drying gas, as well as from the CE capillary protrusion length from the interface needle [Mokkadem et al., 2008]. However suction effect would normally not affect the migration order as observed on the figures for some of the cationic dyes (e.g. FB and AO). In that respect, it has to be pointed out that this inversion in t_m may be only apparent as with migration times within tenth of seconds and considering the RSD, small variations among repeat analyses would explain an occasional variability on t_m . Indeed superimposed single electropherograms chosen among those obtained from several injections are represented on the figures.



a)



b)

Figura 5.5: Superimposed EIEs of the cationic dyes (a) and the anionic dyes (b) (single injections).

5.3.3.1. CE-ESI-MS(+) for cationic dyes

From the three organic solvents tested (methanol, ethanol and 2-propanol) with water (1:1) as sheath liquid, methanol provided the best sensitivity (Figure 5.6). As for its proportion, signal intensity was best with MeOH:H₂O 1:1 (range tested: 1:3, 1:1 and 3:1) (Figure 5.7).

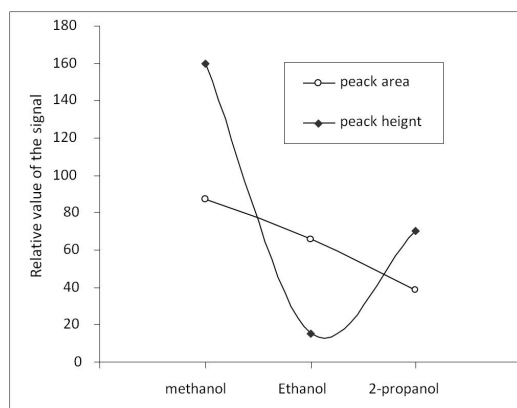


Figura 5.6: Influence of different organic solvents used in the composition of the sheath liquid on the MS signal intensity.

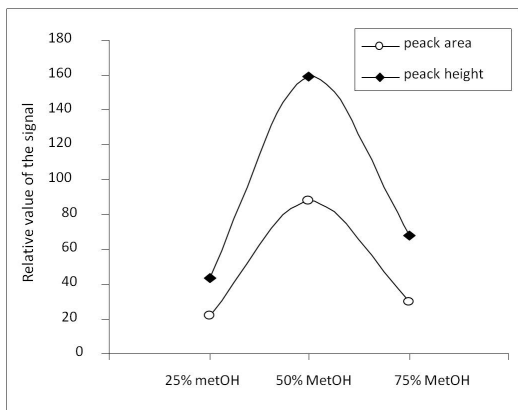


Figura 5.7: Influence of the concentration of MeOH in the sheath liquid on the MS signal intensity.

Formic acid at 0.5 % (v/v) was preferred over acetic acid to improve ionization (increased signal intensity) as the sensitivity resulted somewhat better (range tested: 0.25 to 1.25 %, v/v). As sheath liquid flow rate of $400 \mu\text{L h}^{-1}$ was sufficient to obtain a good spray, as table MS capillary current and considerable sensitivity (range tested: $100 \mu\text{L h}^{-1}$ to $600 \mu\text{L h}^{-1}$).

The effect of the pressure of the nebulising gas was examined in the range of 5 psi to 11 psi. The increase of the pressure produced a reduction in the migration times but a decrease in sensitivity. The lowest pressure of 5 psi was chosen.

The drying gas flow rate was tested between 2 L min^{-1} and 8 L min^{-1} in steps of 2 L min^{-1} . It was observed that the influence on the migration times and peak intensity was not significant. A flow rate 4 L min^{-1} was selected as it falls in the range recommended by the manufacturer for a good stability of the spray at the sheath liquid flow rate chosen. Drying gas temperature was tested gradually from $50 \text{ }^\circ\text{C}$ to $300 \text{ }^\circ\text{C}$. The best signal was obtained with a drying gas temperature of $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Under these conditions, these parathion and identification of the fourteen cationic dyes was achieved in 10 min. The extracted ion electropherograms (EIE) obtained with the cationic dyes under the optimum conditions are shown in figure 5.5.

The MS and MS² spectra of each reference dye can be found in the annex C. Table 5.2 lists the theoretical precursor ions for each dye (m/z th) and the experimental ones (m/z exp) as well as minor peaks, which could not be assigned to a specific compound. They likely indicate the presence of degradation by-products or impurities as the dyes are not 100 % pure.

The MS² daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses, when attributed, are gathered in tables 5.3, 5.4 and 5.5. The precursor ions were always identified and most daughter ions could be assigned to specific fragments. Fragment structures or fragment losses could be proposed for all the MS² base peaks of the cationic dyes except in the case of FB (m/z 226.7). While some of the fragmentations were straight forward (e.g. loss of functional groups or fragments), others were more difficult to assign due to a difference of 1, and sometimes 2 amu with the possible obvious fragments. Transfers of hydrogen atoms with competition between hydride and proton abstractions would explain some of the fragments found, as tentatively proposed in tables 5.3, 5.4 y 5.5. In fact, hydride abstraction has been reported to occur with an ESI interface in positive ion mode on related molecular structures (dihydropyridines and pyrimidines) [Chai et al., 2011] [Orelli et al., 2006]. An explanation for these hydrogen transfers would be high collision energy for the MS², which could perhaps be avoided by working at lower energies.

Dye abbrev.	Formula	Migration time		Mr (g mol ⁻¹)	Precursor ion(s) formula (Mp) <i>(unascertained formulas in italics)</i>	Precursor ion(s)(Mp) m/z th ①	Precursor ions(s) (Mp) (+ minor peaks) m/z exp	
		(min)	RSD % (n=9)					
CATIONIC DYES	TT	(C ₁₇ H ₁₉ N ₂ S) ⁺ , Cl ⁻	5.09	1.76	318.87	[M-Cl] ⁺	283.13	282.9 , 226.7, 321.0
	FB	(C ₂₃ H ₂₄ N ₂ Cl) ⁺ , Cl ⁻	5.18	2.23	399.36	[M-Cl] ⁺	363.16	363.1
	AO	C ₁₇ H ₂₁ N ₃ , HCl	5.21	1.80	303.84	[MH] ⁺	268.18	268.0 , 212.6
	BG	(C ₂₃ H ₂₃ N ₃) ⁺ , HSO ₄ ⁻	5.29	3.78	482.65	[M-HSO4] ⁺	385.26	385.2 , 289.8, 450.0
	CV	(C ₂₃ H ₂₀ N ₃) ⁺ , Cl ⁻	5.31	5.61	407.99	[M-Cl] ⁺	372.2	372.1
	RH6G	(C ₂₈ H ₃₁ N ₂ O ₃) ⁺ , Cl ⁻	5.40	1.21	479.02	[M-Cl] ⁺	443.23	443.1 , 331.8, 373.0, 462.7
	AG	C ₁₇ H ₂₁ N ₃ , HCl	5.42	2.91	303.83	[MH] ⁺	268.18	268.0 , 217.7
	VBR	(C ₂₉ H ₃₂ N ₃) ⁺ , Cl ⁻	5.43	0.78	458.05	[M-Cl] ⁺	422.26	422.1 , 241.9, 330.0, 408.2
	EV	(C ₃₁ H ₄₂ N ₃) ⁺ , Cl ⁻	5.59	1.01	492.15	[M-Cl] ⁺	456.34	456.3 , 368.3, 549.2
	VBB	(C ₃₃ H ₃₂ N ₃) ⁺ , Cl ⁻	5.78	3.09	506.1	[M-Cl] ⁺	470.26	470.2 , 354.8, 378.8, 420.0, 440.9, 456.2, 483.7
	MB	(C ₁₆ H ₁₈ N ₃ S) ⁺ , Cl ⁻	5.52	3.15	319.85	[M-Cl] ⁺	284.12	284.0 , 227.6, 361.1, 367.2, 377.5, 387.0
	BB	(C ₃₄ H ₃₄ N ₃) ⁺ , Cl ⁻	6.05	4.47	520.11	[M-Cl] ⁺	484.28	484.2 , 207.3, 226.6, 299.0, 391.1, 412.2, 450.8
	RHB	(C ₂₈ H ₃₁ N ₂ O ₃) ⁺ , Cl ⁻	6.64	7.63	479.02	[M-Cl] ⁺	443.23	443.1 , 315.1, 405.0
	CG	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ , HCl	6.78	2.03	248.72	[MH] ⁺	213.11	212.9 , 114.0, 247.8, 291.0
ANIONIC DYES	PBVF	(C ₂₇ H ₃₁ N ₂ O ₅ S ₂) ⁻ , Na ⁺	8.36	0.81	566.68	[M-Na] ⁻	543.16	543.7
	PBV	(C ₂₇ H ₃₁ N ₂ O ₅ S ₂) ⁻ , 1/2Ca ²⁺	9.96	0.43	579.72	[M-0.5Ca ²⁺] ⁻	559.16	559.5 , 581.3, 641.3, 663.3
	CH	C ₃₀ H ₂₆ N ₄ O ₅ S ₂ Na ₂	10.27	1.27	680.67	[M-2Na] ²⁻	317.06	317.3 , 469.2
	RB	(C ₂₀ H ₂ Cl ₄ NaO ₅) ⁻ , Na ⁺	10.24	0.86	1017.64	[M-Na] ⁺	992.38	992.5 , 715.2, 765.7, <u>800.7</u> , 892.6
	ERB	(C ₂₀ H ₄ NaO ₅) ⁻ , Na ⁺	12.38	1.53	879.87	[M-Na] ⁻ , [Mp-Na ⁺ +H ⁺] ⁻	856.6 / 834.9	856.7 / 834.7 , <u>662.8</u>
	EY	(C ₂₀ H ₄ Br ₂ NaO ₅) ⁻ , Na ⁺	13.00	4.04	691.88	[M-Na] ⁻ , [Mp-Na ⁺ +H ⁺] ⁻	668.68 / 646.8 ①	668.8 / 646.9 , 469.2, 521.1, 551.2, 753.7, 800.0
	DII	C ₂₀ H ₁₀ I ₂ O ₅	13.16	1.22	584.1	[M-H] ⁻ , [Mp-H ⁺ +Na ⁺] ⁻	582.85 / 604.9	583.1 / 605.0 , 537.2, 686.9
	ERB2	C ₂₀ H ₄ I ₂ O ₅	13.21	2.47	835.9	[M-H] ⁻	834.9	834.7 , <u>662.8</u> , 689.0, 856.7
	EB	C ₂₀ H ₆ Br ₂ N ₂ Na ₂ O ₅	13.41	3.26	624.08	[M-Na] ⁻ / [Mp-Na ⁺ +H ⁺] ⁻	598.74 / 576.84 ② 600.74 / 578.84 ③	601.1 / 579.1 ④, 501.6, 680.8, 703.4, 762.2

① The masses of the molecular and pseudo-molecular ions were calculated based on the exact masses of the lighter isotopes

① Most abundant isotopic combination: 2 ⁷⁹Br and 2 ⁸¹Br

② Combination with 2 ⁷⁹Br

③ Combination with 1 ⁷⁹Br and 1 ⁸¹Br

Tabla 5.2: Compound formula, migration time and RSD, precursor ions (Mp) expected (m/z th), Mp found (m/z exp) (in bold) of the reference dyes. Unassigned additional minor peaks from impurities, by-products or adducts are also listed when present (italics + underlined when base peaks). Complete spectra can be found in the annex C.

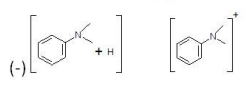
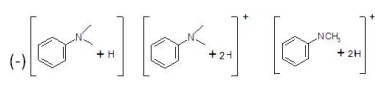
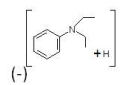
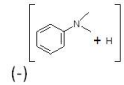
Abbrev.	Mp	MS ² ions
TT	282.9	267.9 (-) CH ₃ 161.8 120.0 
FB	363.1	327.1 (-) HCl 226.7
AO	268.0	253.0 (-) CH ₃ 146.9 122.0 106.9 
BG	385.2	355.2 (-) [C ₂ H ₅ + H] 341.2 (-) [N(C ₂ H ₅) + H] 235.9 
CV	372.1	356.1 (-) [CH ₃ + H] 328.1 (-) N(CH ₃) ₂ 251.0 
RH6G	443.1	415.1 (-) C ₂ H ₅ (+) H

Tabla 5.3: I: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS²: daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS² base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.


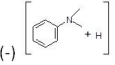


Abbrev.	Mp	MS ² ions				
AG	268.0	146.9 (-)	122.0 	106.9 (-) CH ₃ off m/z 122.0		
VBR	422.1	407.1 (-) CH ₃	393.1 (-) C ₂ H ₅	377.1 (-) [N(CH ₃) ₂ + H]	301.1 (-) 	272.0
EV	456.3	427.2 (-) C ₂ H ₅	412.2 (-) CH ₃ off m/z 427.2 or (-) [N(C ₂ H ₅) + H]			
VBB	470.2	455.1 (-) CH ₃	378.1  (-)	349.1 (-) 	334.1 (-) CH ₃ off m/z 349.1	306.1 (-) [N(CH ₃) ₂ off m/z 349.1] + H or (-) [N-CH ₃ off m/z 334.1] + H
MB	284.0	269.0 (-) CH ₃	252.2	241.0 (-) [N(CH ₃) ₂] (+) H	235.8	

Tabla 5.4: II: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS²: daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS² base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.

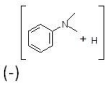

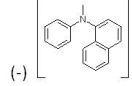

Abbrev.	Mp	MS ² ions
BB	484.2	<p>363.1 347.2 / 348.1 / 349.0 251.0 / 252.0 / 253.0</p> <p>    </p> <p>(-) (-) (-) (251.0)</p> <p>off m/z 469.1 (347.2)</p> <p>/(-) [same] (+) H (348.1) /(-) [same] (+) H (252.0)</p> <p>/(-) [same] (+) 2H (349.0) /(-) [same] (+) 2H (253.0)</p>
RHB	443.1	<p>413.1 399.1</p> <p>(-) [C₂H₅ + H] (-) CO₂</p>
CG	212.9	<p>195.8 157.7 140.8 120.9 104.8</p> <p>(-) NH₃</p> <p>  </p> <p>(-) (= [NH₂-C₆H₃-NH₂ + H])</p>

Tabla 5.5: III: MS: m/z precursor ion(s) (Mp). MS²: daughter ions for the cationic dyes with corresponding proposed fragments or fragment losses (minus sign), when attributable (MS2 base peaks in bold, unattributed m/z and multiple possible formulas in italics). . Spectra for the complete dyes list can be found in the annex C.

The precursor ion was actually sufficient for the identification of the cationic dyes, except for differentiating between RH6G and RHB, which both had m/z 443.1, and additionally migrated at neighbouring tm (less than 1 min difference). Fragmentation in MS² was thus necessary for their discrimination. For RH6G, a daughter ion m/z 415.1 was obtained (no assignment found) and for RHB, two daughter ions were detected at m/z 399.1 (no assignment found) and m/z 413.1 (possibly the loss of an ethyl group and addition on the fragment ion of H⁺). Despite the fact that with CE separation before and MS² was not essential for identification purposes, it was carried out nevertheless since in real sample matrices, the complexity of the spectra can hinder the identification of peaks, in

which case fragments can be useful for confirmation.

5.3.3.2. CE-ESI-MS(−) for anionic dyes

The same stepwise procedure was performed to optimize the method in negative ion mode for the characterization of the anionic dyes. From methanol, ethanol and 2-propanol in 1:1 mixture with water, 2-propanol allowed for the best sensitivity, the best proportion indeed being 1:1 (tested range: 1:3, 1:1, 3:1). The addition of acid did not improve the signal, the natural charge of the dyes was sufficient for a good ionization output. Changing the flow rate of the sheath liquid in the range 200 $\mu\text{L h}^{-1}$ to 400 $\mu\text{L h}^{-1}$ showed that 400 $\mu\text{L h}^{-1}$ provided the best peak area and peak height, with a good spray stability. The optimal pressure for the nebulising gas was 7 psi (tested range 5–9 psi). The drying gas flow rate chosen was 4 L min^{-1} (range tested 2 L min^{-1} to 8 L min^{-1}), and the drying gas temperature was fixed to 300 $^{\circ}\text{C}$. This method enabled the separation and identification of the nine anionic dyes within 20 min.

In Fig.5.9 the EIE obtained for all the anionic dyes under the optimized conditions are presented. Table 5.2 lists the precursor ions and other peaks on the spectra assumed to be due to impurities or degradation byproducts which could not be assigned. These were mostly minor, although, inexplicably, major in two instances (m/z 800.7 for RB and m/z 662.8 for ERB and ERB2). Each dye showed a characteristic m/z , which was identified in all cases. For ERB, EY and EB, two major peaks were found, corresponding to the loss of one and two sodium atoms, respectively (MS spectra can be found in the annex C). In the case of DII two major peaks were also present, the second peak corresponding to the sodium adduct. The acquisition of the MS spectra resulted sufficient for identification. At any rate, the sensitivity obtained with the anionic dyes being one to two orders of magnitude lower than with cationic dyes, MS2 could not be performed most of the time [Cech and Enke, 2001].

5.3.4. Identification of the dyes in the filmcolor photograph

The sample taken from the filmcolor (Figure 5.8) was analysed using the CE-ESI-MS methodology developed, with two consecutive injections in positive and negative ion mode. The identification was carried out by comparing tm and spectra (MS and MS²) with those of the reference dyes analysed earlier. MS and MS²spectra were very complex. A few representative spectra are shown in figure 5.9 , the other ones can be found in the annex C.



Figura 5.8: Original box of filmcolor.

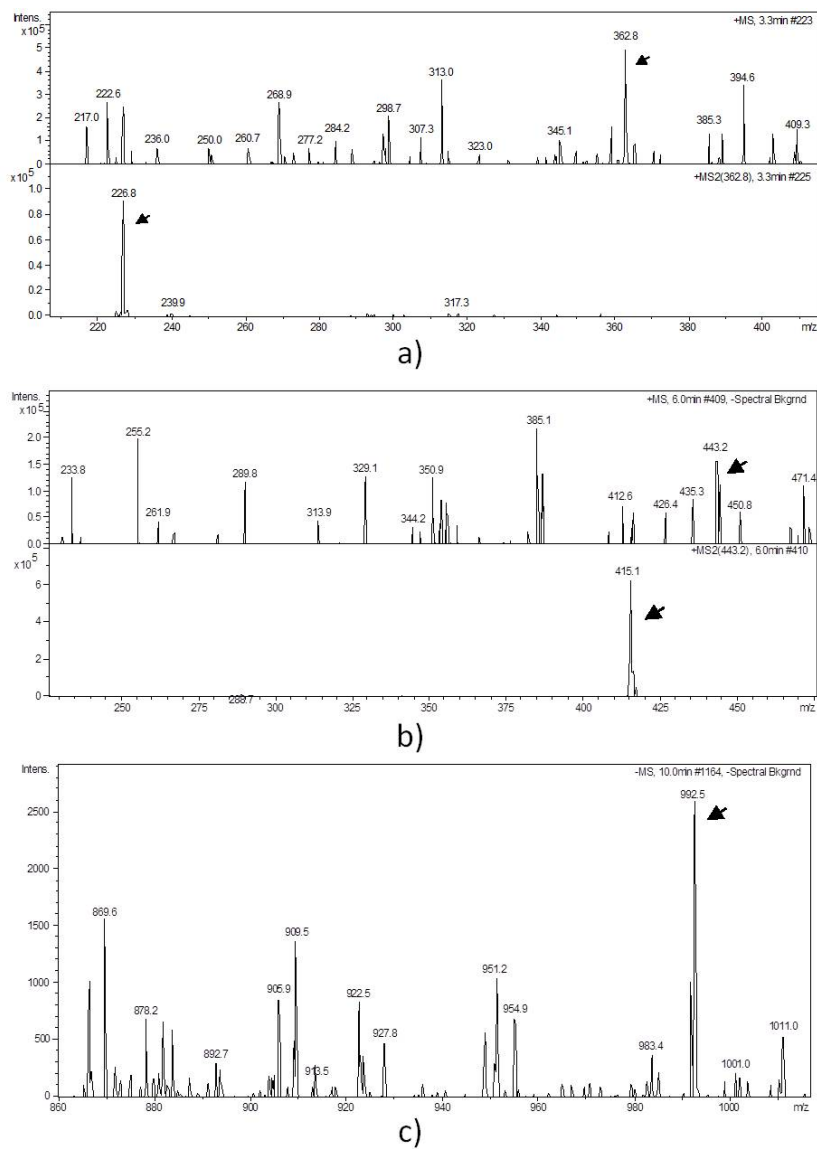


Figure 5.9: MS and MS2 spectra of a few the dyes identified in the filmcolor sample. As example: (a) FB (m/z 362.8, MS2: 226.8), (b) RH6G (m/z 443.2, MS2: m/z 415.1), (c) RB (m/z 992.5). Complete spectra can be found in the annex 2.

Four cationic dyes were identified with certainty in positive ion mode: FB (m/z 362.8, MS2: 226.8), BG (m/z 385.0, MS2: m/z 355.3 and m/z 341.1), RH6G (m/z 443.2, MS2: m/z 415.1), and MB (m/z 284.0, MS2: m/z 268.0). Additionally, two more dyes can be proposed as possibly present as traces: CG (m/z 211.9, MS2: m/z 104.9) and CV (m/z 372.2, MS2: m/z 356.0). Attribution remains cautious for the latter because the intensity of the peak of the MS2 fragment ion was very low for CG, and for CV the second MS2 fragment ion expected (m/z 250.9) was absent. Note worthy is the presence of the minor unassigned peaks also observed on the reference dyes MS² spectra at m/z 121.0 and m/z 141.0 for CG and at m/z 236.8 for CV.

The following anionic dyes were identified with confidence: RB (m/z 992.5), DII (m/z 583.3 and m/z 605.9) and ERB (m/z 834.9 and m/z 856.4). PBVF (m/z 543.5) and PBV (m/z 559.6) were in our opinion most likely present as traces, and the very low intensity of the peaks required caution in their attribution. As observed for the reference dyes, the range of intensity of the peaks for the anionic dyes was at least one order of magnitude lower than for the cationic dyes. Also noteworthy is the fact that t_m varied slightly compared to t_m for there ference dyes. This was due to the fact that the latter were injected individually or by groups of three, while the filmcolor sample seemingly contained at least ten dyes. The variation in t_m can also be attributed to sample matrix effect: in the filmcolor sample organic compounds other than dyes could still be present despite the filtration, thus complicating the separation and possibly modifying the migration properties.

With these results, the following hypothesis can be presented regarding the dyes composition of the filmcolor: RH6G, RB, DII and ERB (and possibly trace amounts of CG) as red/orange dyes, FB, MB (and possibly trace amounts of CV, PBVF, PBV) as blue/violet dyes, and BG as green dye.

Although it is difficult to do a fair comparison due to the fast evolution of the techniques in a couple of decades, previous work on the very same filmcolor artifact using HPLC-PDA allowed identifying only five dyes: RH6G and Tartrazine (CI.19140) for the red/orange, PBV and CV for the blue/violet and BG for the green [Lavédrine, 1992] [Lavédrine, Gandolfo and Susbielles, 1993]. Our results thus partly confirmed and enhanced the knowledge of the dyes in the filmcolor photograph, as six cationic and five anionic dyes were identified, among which

seven fully ascertained. The list could even be extended considering that the array of dyes available at the time of production of the filmcolor expanded beyond the range of those used as references in this work. This diversity of dyes in a single artifact is remarkable. It is unlikely that a starch grain would be dyed with different dyes of the same colour. A common explanation would be that mixtures of dyes could have been used to achieve a subtle colour rendering. Another hypothesis is that different batches of starch of the same colour, but dyed with colourants of different chemical composition at different moments in time, could have been mixed, simply for practical reasons. This would explain that some dyes were indeed present in trace amounts in the sample, which would also explain some of the minor peaks. Also, as mentioned earlier, many synthetic dyes are not 100 % pure and by-products can be formed during the synthesis, which would also add to the intricacy of the analyses.

Using the CE-PDA method on the filmcolor sample no peak emerged from the background noise, probably because the sample was too dilute for PDA detection. Reconcentration was anyhow not possible due to the very small initial sample volume (25 ml). Hence, CE-ESI-MS proved far superior over CE-PDA for the identification of synthetic dyes in a real artefact.

5.4. Conclusion

The CE-PDA method developed is, as far as we know, the first method to enable the analysis of such a large panel of dyes of opposite charge in a single, simple and short analysis (15 min). The sensitivity was not sufficient in the difficult case of the filmcolor sample.

For challenging applications, the method can thus be proposed as a first identification and screening method to quickly determine which types of dyes are present in very dilute and complex mixtures before applying the more dedicated CE-ESI-MS methodology.

The CE-ESI-MS methodology is straight forward, fast and, as the CE-PDA method, involves no tedious sample pretreatment. The advantage of MS detection lies in the simultaneous determination of all the dyes as the value m/z of the molecular or pseudo-molecular ions, as well as that of the MS2 ions, helped indiscriminating and identifying compound seven when they showed very close migration times. Furthermore, the CE-ESI-MS methodology has much greater

sensitivity than CE-PDA and permits a partial structure elucidation of the dyes. Thanks to the miniaturized sampling, CE-ESI-MS can be applied to small samples such as those originating from valuable cultural heritage artefacts. In this work, it was successfully applied to the historic sample chosen. It has to be noted however that, despite previous cleaning, the filmcolor sample remained complex and did not allow as good a separation as the reference dyes. This was expected as it is a recurrent challenging problem when analyzing the often complex sample matrices originating from historic artefacts.

Further improvement of the separation conditions and MS parameters for the detection of cationic and anionic dyes is envisaged to possibly help extend the identifications in the case of complex mixtures and/or very dilute samples. Nevertheless numerous dyes could be identified in the filmcolor, confirming the analyses carried out by previous researchers, and adding new ones to the list, never identified before, thus enhancing knowledge of the composition of these early photographs. In that respect, caution is advised for some of the identifications proposed in the case of the presence of dyes as traces. On the historic level, it appears likely from this research that dyes could be mixed together to obtain subtle hues or that batches of starch dyed with different dyes of the same colour could have been originally mixed by the manufacturer, resulting in multi-compound mixtures, and thus complex dye composition of the photographs, an element that went unnoticed so far.

Synthetic dyes are quickly replaced the natural dyes in the manufacture of historical and artistic artefacts since 19th century. Therefore an identification of this dyes will usually be required in the restoration intervention in order to improve the conservation of our most recent cultural heritage.

Capítulo 6

Analysis of a royal 15th Century illuminated parchment using a portable XRF-XRD system and micro-invasive techniques

RESUMEN

En este capítulo se ha empleado un equipo complementario no invasivo de difracción de rayos X (XRD) y fluorescencia (XRF) para la identificación in situ de materiales inorgánicos en un valioso pergamino iluminado, actualmente conservado en el Archivo de la Real Chancillería en Granada (España), en el cual el rey Enrique IV (1425-1474) confiere el título de nobleza a Gil Fernandez y Alonso Covo. Para el estudio por electroforesis capilar (CE) de los materiales orgánicos se recurrió a la toma de micromuestras, que también se emplearon para el análisis por espectroscopía micro-Raman y microscopía electrónica de barrido (SEM-EDX), que ayudaron a confirmar la naturaleza de los materiales que habían sido identificados mediante XRD-XRF.

Se detectó oro y plata además de óxido de plomo y cinc en los amarillos, azurita en el azul, bermellón y minio en los colores rojos y malaquita en los verdes. La calcita fue aplicada en la totalidad de la superficie de las hojas mientras que el yeso solo aparece en las áreas de texto. El texto del pergamino se realizó con tintas

con base de hierro.

Estos análisis ayudarán a situar este documento en su contexto histórico; además sirven como punto de partida para el estudio comparativo con otros documentos similares.

ABSTRACT

A system of complementary X-ray diffraction (XRD) and fluorescence (XRF) was used for non-invasive in situ identification of inorganic materials in a highly valuable illuminated parchment, now preserved at the Archive of the Royal Chancellery in Granada (Spain), via which King Enrique IV (1425 - 1474) conferred nobility on Gil Fernandez and Alonso Covo. The study of organic matter, by capillary electrophoresis (CE), could not be performed without taking microsamples that had also been used to confirm - by micro-Raman spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM-EDX) - the nature of inorganic materials that had been identified by XRD-XRF.

Gold and silver were detected as well as lead tin oxide in yellow, azurite in blue, vermilion and minium in reddish colours and malachite in green. Calcite was applied to the entire sheets and gypsum to the text area. Iron-based ink was used for the parchment text.

These analyses enable the document to be put into its historical context; they serve as a starting point in a comparative study with other similar documents.

RÉSUMÉ

Nous avons employé un équipement non-invasif complémentaire de diffraction des rayons X (XRD) et fluorescence (XRF) pour l'identification in situ des matériaux inorganiques présents sur un parchemin illuminé précieux, actuellement conservé dans les archives de la Chancellerie Royale de Grenade (Espagne), par lequel le Roi Enrique IV (1425-1474) confère un titre de noblesse à Gil Fernandez et Alonso Covo. Pour l'étude des matériaux organiques par électrophorèse capillaire (CE) le recours à la prise de microéchantillons a été nécessaire, lesquels ont pu être également utilisés pour confirmer la nature des matériaux identifiés par XRD-XRF grâce à l'analyse en spectroscopie micro-Raman et en microscopie électronique à balayage couplée à la spectrométrie des rayons X en dispersion des énergies (SEM-EDX).

L'or et l'argent ont été détectés en plus d'un oxyde de plomb et de zinc dans les jaunes, de l'azurite dans les bleus, du vermillon et du minium dans les rouges et de la malachite dans les verts. La calcite a été appliquée sur la totalité de la surface de la feuille alors que le gypse se retrouve uniquement dans les zones de texte, ce dernier étant écrit avec une encre ferrogallique.

Ces analyses nous aident à situer le document dans son contexte historique et constituent la base d'une étude comparative ultérieure avec d'autres documents similaires.

6.1. Introducción

Parchments were for many centuries the vehicle of culture and information throughout Europe at least until the end of the Middle Ages, when parchment was progressively substituted by paper [Pangallo et al., 2010]. Parchments are made from the skin of sheep, goat or calf, and are commonly employed for codex or manuscripts, as a support for written documents and also for illustration purposes and as cover material in book-binding [Dolgin et al., 2009] [Walczak et al., 2008]. Illuminations are coloured adornments such as initial capital letters, fringes of text or miniature illustrations embellished with gold and/or silver. The illumination process was reserved for the most precious documents. The earliest surviving illuminated artworks date from the 5th Century, though it was not until about the 12th Century that their production began to flourish in earnest. This ‘golden age’ of illumination lasted until the arrival of Gutenberg’s printing press after 1450 [De Hamel, 2001].

Royal solemn privileges are the most important and solemn documents dispensed by the Royal Chancelleries in the Middle Ages in which the King conferred significant privileges. In the Iberian Peninsula, these documents (known as *privilegios rodados*) were dispensed between the 12th and 16th Centuries.

Their importance lies not only in their beauty, but also in that they provide a safe documentary basis for the reconstruction of the historical past. Their design, materials and content organization were subjected to a strict process. Pigments and dyes are the main components for producing the inks and paints. Due to their generally organic origin, most dyes are photosensitive and undergo tone/hue alteration over time. They are also altered by climate changes, and are very sensitive to restoration treatments and conservation conditions [Matteini and Moles, 2001]. Binders of pigments and dyes are generally water-soluble; therefore, even the simplest water-based cleaning methods might dissolve them. All these phenomena make the identification of pigments and dyes a pre-requisite for any intervention on a document.

Illuminated parchments are difficult to analyse; they are unique works of art, made of extremely delicate materials, and, generally, institutions only permit their study in situ in order to prevent any damage caused by changes in temperature and humidity.

In addition, the value of these objects makes their transportation risky and ex-

pensive, hence the development of portable analytical instrumentation that can be brought to conservation sites (museums, archives, libraries, etc.). Portable X-ray fluorescence (XRF) systems have been widely employed to ascertain the elemental composition of materials on illuminated parchments and manuscripts [Aceto et al., 2012] [Bruni et al., 2008] [Manso et al., 2013] [Miliani et al., 2012] [Van der Snickt et al., 2008]. However, XRF is often not specific enough to identify these materials with certainty. The materials in heritage objects are most often complex mixtures including inorganic as well as organic materials. It is therefore necessary to use various experimental techniques. Recently, spectroscopic techniques have been extensively applied for the study of this type of artwork [Aceto et al., 2012] [Manso et al., 2013] [Miliani et al., 2012] [Nastova et al., 2012] [Pessanha et al., 2012]. For inorganic matter, X-ray diffraction (XRD) is highly suitable for complementing XRF, by performing XRD and XRF at the same point where X-rays hit the artwork surface. Only a few portable XRD systems are available for phase identification, and limitations in terms of angular resolution and measurement times are often observed [Chiari, 2008] [Gatto Rotondo et al., 2010] [Gianoncelli et al., 2008] [Sarrazin et al., 2008] [Uda et al., 2005]. A portable XRD/XRF equipment has been designed and built at the laboratory of the Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France (C2RMF). This non-invasive analytical system has been tested on a large number of ancient artworks, mostly paintings and ceramics in various museums [Duran et al., 2010 and 2011a] [Eveno et al., 2010] [Gianoncelli et al., 2008], but it has not been used on ancient illuminated parchments.

Organic dye identification cannot be performed by XRF-XRD; therefore, other analytical techniques have to be used. Capillary electrophoresis (CE) was selected because the method of analysis of dyes must be highly selective and sensitive due to the complexity of the matrices and the limited quantity of sample available. Particularly in the case of graphic documents CE has proven to be a very powerful tool; it allows the combination of short analysis times and high separation efficiency although a microsample is required [López-Montes et al., 2007]. Taking advantage of the few microsamples collected, Raman spectroscopy and SEM-EDX (non-destructive techniques) were used to check the results from XRD/XRF and examine the structure of inorganic and organic materials in the parchment.

This chapter describes the case of a remarkable 15th Century parchment studied mainly with an XRD and XRF portable system. Understanding the materials

that constitute graphic works and archival materials facilitates dating, authentication, and comparison with similar documents for the reconstruction of its documental typology, while also helping to better undertake their conservation.

This research project was made in collaboration with the researcher Adrián Durán, from Department of Chemistry and Soil Science (University of Navarra – Spain) and Jacques Castaing, from C2RMF Palais du Louvre (Paris – France). Also it has been published [Durán et al., 2014]: Durán, A., López-Montes, A., Castaing, J., Espejo, T. Analysis of a royal 15th Century illuminated parchment using a portable XRF-XRD system and micro-invasive techniques. *J. Archaeological Science* 45 (2014) 52-58.

6.2. Experimental methods

6.2.1. The privilegio rodado of the Archive of the Royal Chancellery

The document of this study is a privilegio rodado (royal solemn privilege). The handwritten privilege, dated to 1459, in which the king Enrique IV of Castile conferred nobility on Gil Fernandez and Alonso Covo (Figure 1) is one of the most important objects preserved in the Archive of the Royal Chancellery from Southern Spain. The Chancellery was constituted in 1494 – shortly after the conquest of Granada – as the High Court of Justice by Isabel I of Castile and her husband Fernando II of Aragon, the ‘Catholic Monarchs’. The document is issued in the form of a quire composed of four sheets of parchment with dimensions 380 x 300 mm². The sheets are written in Castilian with gothic letters on both sides. The ink used for writing is now brownish. The initial capital letter is illuminated with Renaissance themes in reddish pink, green, blue, yellow and black, and gold (Figure 1a). In the middle of the text on the second sheet, a small coat of arms containing a brown tower is decorated with blue and gold (Figure 1b).

The main feature of the document is the presence of the royal seal framed by a wheel (*signum regis*) placed in the recto of the last sheet and flanked by a list of witnesses (Figure 1c). It is this aspect that distinguishes the privileges delivered by the Castilian Chancellery from others dispensed by European governments [Floriano, 1946] [Soterraña, 1959]. According to the typology established for this type of document [Soterraña, 1959], the *signum regis* matches with model II, which

consists of a central circle (with two concentric rings around it) inscribed in a square. Within the central circle is the royal coat of arms of Castile and Lion – two golden castles and two brown lions – and inside the rings are severely damaged decorative letters, in gold on a blue background for the inner ring, and in silver on red background for the external one (in which the royal butler and the second lieutenant ratify the document). Finally, the spaces between the circle and the square contain vegetal motifs in red or blue (Figure 1c). The state of conservation of this document was acceptable and, as far as we know, it had not undergone any previous restoration treatment. It was therefore considered suitable for a study of the materials used for its fabrication and for the evaluation of their possible alterations over time. Bringing the portable XRF-XRD heritage-dedicated system [Gianoncelli et al., 2008] into the archives at Granada avoided the cost and the risk of carrying the document to a laboratory for analysis.

Figure 6.1 shows the positions of the analysed zones thought to represent all the materials present in the privilegio rodado. The study included areas of the unpainted zone of the parchment, the gilding and silvering, the ink, and also the yellow, blue, red, green, pink and black painted areas.

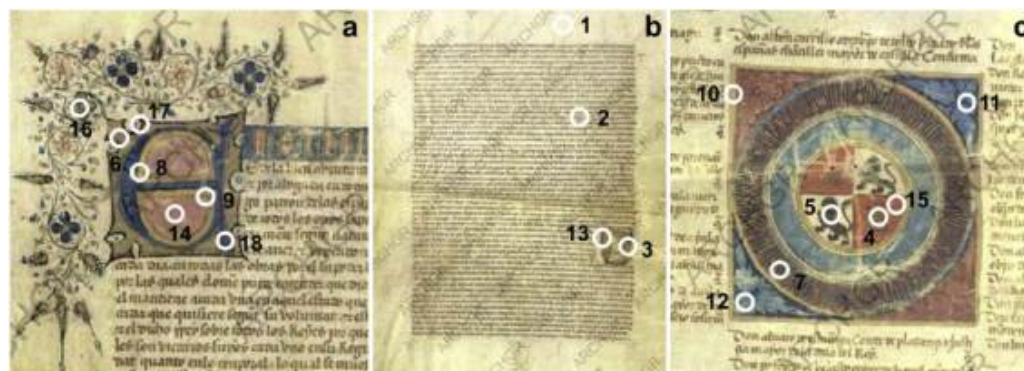


Figura 6.1: Areas analysed on the parchment: (1) zone without text; (2) text area; (3) background of the small coat of arms; (4) castle in the rota of the signum regis (gilding); (5) lion in the rota of the signum regis (gilding); (6) yellow colour in the capital letter (gilding); (7) decorative letters surrounding the rota of the seal within the signum regis (silvering); (8 and 9) yellow colour in two areas of the capital letter; (10) yellow colour in the signum regis; (11) blue colour at the top of the signum regis; (12) blue colour at the bottom of the signum regis; (13) blue colour in the background of the small coat of arms; (14) reddish pink colour in the capital letter; (15) red colour in the base of the castle in the signum regis; (16) green colour in the capital letter; (17) black colour of the drawing in the capital letter; (18) blue colour in the capital letter.

6.2.2. Analytical techniques

The portable XRD/XRF is described in various publications [Duran et al., 2010] [Eveno et al., 2010] [Gianoncelli et al., 2008]. Briefly, the X-ray source is equipped with an air-cooled copper anode tube ($I = 700 \mu\text{A}$, $V = 40 \text{ kV}$, $\text{Cu-K}\alpha$ line at $E=8.04 \text{ keV}$) and a polycapillary semi-lens that provides a high intensity parallel beam. The presence of second diffraction peaks was avoided by inserting a $15 \mu\text{m}$ Ni filter that strongly attenuates the $\text{Cu K}\beta$ line. The incidence angle of the X-ray beam on the parchment was around 10 degrees. The irradiated area on the sample was about $4 \times 3 \text{ mm}^2$. This spot size for XRF-XRD analysis is

not a restriction for the parchment (Figure 6.1) because it presents large areas of uniform colours.

XRF elemental analysis was performed with a Silicon Drift Detector, whose resolution is 150 eV FWHM at 5.9 keV. The distance between the detector and the parchment was about 1.7 cm, the detector being placed orthogonal to the X-ray beam.

Light elements up to silicon were not detected due to the strong absorption in air between the artwork surface and the detector (Gianoncelli et al., 2008). XRF spectra were examined using ArtTAX and Pmca package programmes. A 2-dimensional detector (imaging plate with dimensions 15 x 30cm²) was used to collect the XRD patterns. The imaging plate was read out in a scanner and lastly the image of diffraction rings was converted into a 2θ -intensity diagram adapted to phase identification with the help of EVA commercial software. The time of acquisition was 300 seconds for XRF and 15 minutes for XRD. The depth of analysis is related to the penetration of X-rays that depend on the chemical composition of the object, its density, and the X-ray energies (between 2 and 25 keV); this depth is usually less than 20-30 μm [Eveno et al., 2010]. XRF and XRD are performed at the same point on the artwork surface; they are fast and non-invasive.

In spite of the value of the artwork, nine micro-samples (at a size of around 0.2 by 0.2mm) were collected from the parchment in areas where sampling induced no visible damage, close to areas 5, 9, 12, 13, 14, 15, 17 and 18. Three samples were studied by SEM-EDX and one sample by Raman in order to examine the colour layer structure and composition. The main purpose was to identify the organic matter by capillary electrophoresis (CE) on six samples that were subsequently destroyed.

The organic dyes were identified with the Electrophoresis HP3D CE instrument (Agilent Technologies) equipped with a diode-array detector (PDA, Agilent Technologies), a thermostat column cartridge, a high voltage built-in power supply and an auto-sampler. The software package HP ChemStation version A.0901 was used for collect and subsequently process of electropherograms.

The separation of molecules was carried out in fused silica capillaries (64.5 cm x 50 μm I.D.) with a capillary inlet-to-detector distance of 56 cm. For the analyses the capillary was rinsed with 0.1 M NaOH (Panreac) for 5 minutes at 25 °C, followed by a 3-minute flushing with deionized water to ensure good repeatability. The

capillary was equilibrated by the running buffer compound with 40 mM sodium tetraborate decahydrate (Panreac), having 9.25 pH, for 15 minutes before each sample injection.

Samples were injected hydro-dynamically with a pressure mode (50 mbar) for 13 s. Electrophoretic separation was performed at 30 kV for 15 minutes, resulting in a current of about 60 μ A. The temperature of the capillary was constant at 25 °C. After each analysis, the capillary was rinsed for 3 minutes with deionized water. The buffer was filtered through a 0.20 μ m membrane filter. UV detection was carried out monitoring at 232 nm.

The yellow samples analysed by CE-PDA were dissolved in sodium dodecyl sulphate (SDS) (Panreac) 0.1 M and sonicated for 15 minutes. The solutions were centrifuged at 2000 rpm for 5 minutes before the injection into the capillary. Blue samples were dissolved in acetic acid (Panreac) 17.5 M in an ultrasound bath for 45 minutes. Next, the solution was evaporated to dryness with a nitrogen current at 60°C, redissolved in 0.1 M SDS, and centrifuged at 2000 rpm for 5 minutes.

Before running the CE studies, the micro-samples were examined nondestructively.

For micro-Raman experiments, we used a Jobin-Yvon LabRam Infinity Raman spectrometer equipped with a microscope, red (785 nm) and green (532 nm) laser sources and a CCD detector. The laser power ranged between values under 16 mW to avoid any secondary processes or damage to the parchment material. Two scanning electron microscopes (models HITACHI S-4800 and HITACHI S-510) were used. The micro-samples were carbon coated in a CC7650 Polaron before performing the study. The chemical elemental analyses were performed using an energy dispersive X-ray analyser (model BRUKER XFlash Detector 4010) at an accelerating voltage of 20 kV. Samples used for SEM-EDX analyses were not employed for CEPDA analysis.

6.3. Results and discussion

6.3.1. Unpainted zones and text area

The surface on both sides of each sheet of parchment was analysed. Figure 6.2 shows the XRD diagrams from areas where there is no text (a) and in the text area (b) (zones 1 and 2 in Figure 6.1). The analysis revealed that calcite (CaCO_3) had

been applied to the entire sheets while gypsum ($\text{CaSO}_4 \bullet 2\text{H}_2\text{O}$) was only present in the text area. XRF spectra (Figure 6.3) registered on both zones showed that there was enough sulphur in the text area to obtain a few small gypsum XRD peaks (Figure 6.2b); outside the text area, gypsum was not detected by XRD (Figure 6.2a). These results indicate that calcite is ubiquitous on the parchment sheets.

The presence of calcite in XRD diffractograms is interpreted as resulting from the application of calcium hydroxide used in the liming processes to depilate the skin of the animal; with time, calcium hydroxide is changed into calcite by reaction with the atmospheric carbon dioxide. Gypsum detected in the text area is due to the preparation layer applied to the parchment surface previously to the gilding and to the application of text and illumination. Rubbing the parchment with a piece of gypsum avoids the inks bleeding onto the surface and being absorbed. It also adds a silky appearance [De Hamel, 2001]. Therefore, it was not unexpected to find calcite on the whole surface and on both sides of the parchment, and gypsum only under the text and illuminations.

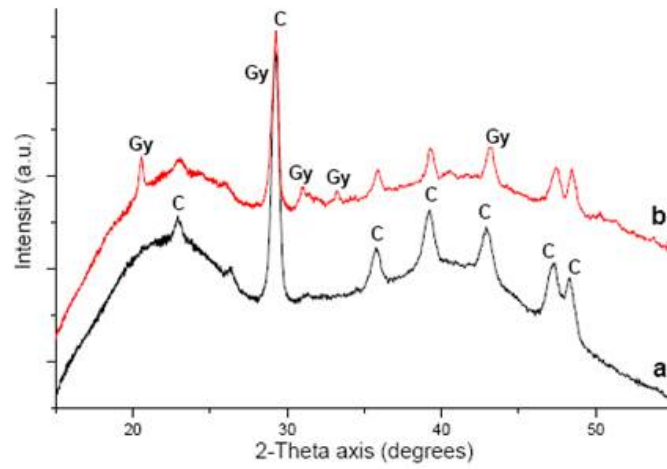


Figura 6.2: XRD diagrams corresponding to areas: (a) where there is no text (1 in Fig. 6.1), (b) on the text area (2 in Fig. 6.1) [C = calcite, Gy = gypsum].

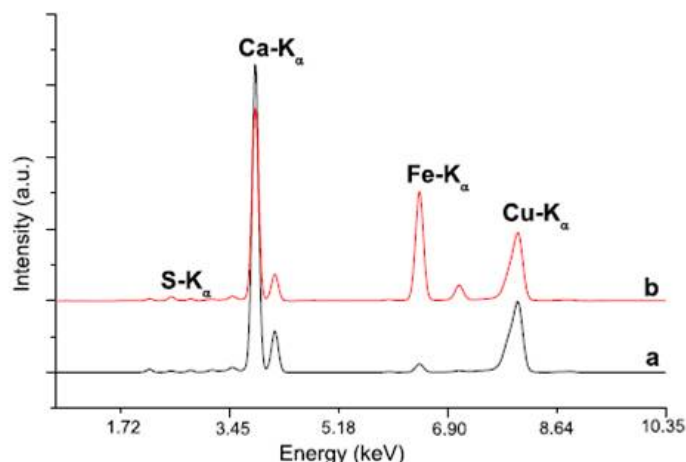


Figura 6.3: XRF spectra collected on areas: (a) where there is no text, (b) on the text area, corresponding to XRD's of Fig. 6.2 (Cu-K α line at $E = 8.04$ keV is due to the X-ray source).

6.3.2. Writing ink

High content in iron and the presence of copper were detected in the XRF spectra (Figure 6.3b) registered on text areas (zone 2 in Figure 6.1b) suggesting an iron gall ink. Only calcite and gypsum were detected as crystalline phases in the text areas by XRD, identical to Figure 6.2b. The presence of iron-based ink was confirmed due to the well-known conversion to a brownish appearance caused by the passing of time, an effect that we have observed in this parchment. XRF spectra were similar in different points of ink, therefore the writing is homogeneous and it is highly likely that only one ink was used in the making of this document.

6.3.3. Gold and silver

Gold was detected at the base of the drawing of the tower within the small coat of arms (zone 3 in Figure 6.1b), in the castles and in the lions within the shield

(rota) of the signum regis (zones 4 and 5 in Figure 6.1c), and also in some parts of the capital letter (zone 6 in Figure 6.1a). Silver was detected in the decorative letters which surround the rota of the seal (zone 7 in Figure 6.1c).

Figure 6.4a shows the XRF spectrum from the castle, in which gold and also mercury were clearly observed, the latter possibly due to the red area surrounding the castle; gold, cinnabar (HgS) and calcite were detected by XRD (Figure 6.5a) at the same point. Lead and gold were detected by XRF in the lion within the signum regis (Figure 6.4b). Minium (Pb_3O_4), gold and calcite (Figure 6.5b) were the crystalline phases detected by XRD in this zone. Both XRF (Figure 6.4c) and XRD (Figure 6.5c) analysis detected the presence of silver in zone 7. In addition, calcite and gypsum were detected.

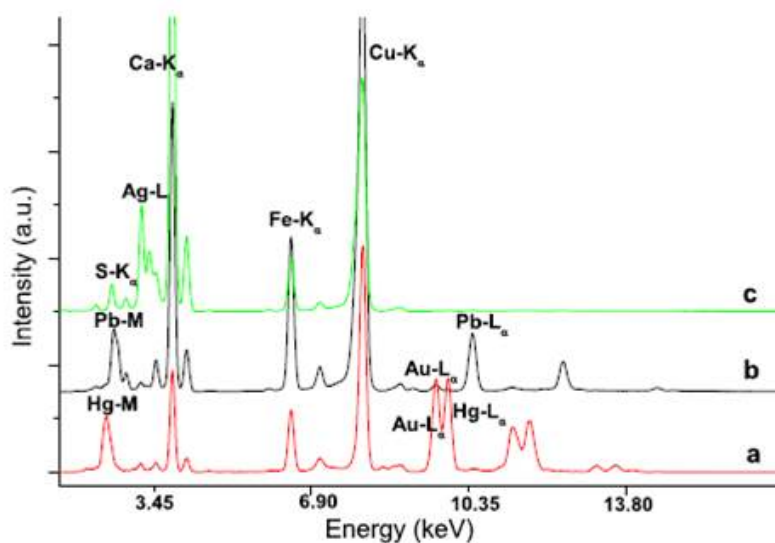


Figura 6.4: XRF spectra collected on gilded areas: (a) the castle in the rota of the seal (4 in Fig. 6.1), (b) the lion in the rota of the seal (5 in Fig. 6.1); and silvery zones: (c) letters surrounding the rota of the seal (7 in Fig. 6.1).

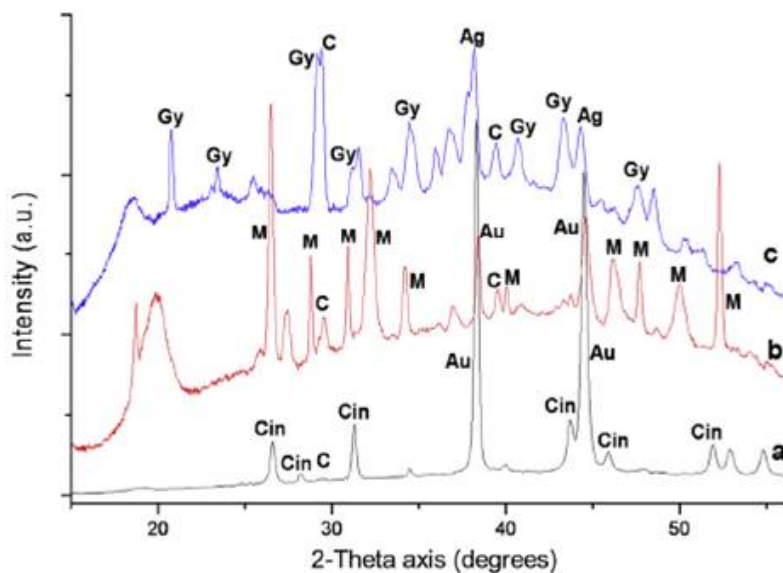


Figura 6.5: XRD diagrams corresponding to gilded areas: (a) the castle in the rota of the seal (4 in Fig. 6.1), (b) the lion in the rota of the seal (5 in Fig. 6.1); and silvery zones; (c) letters surrounding the rota of the seal (7 in Fig. 6.1) [Cin = cinnabar (vermilion), Au = gold, C = calcite, M =minium, Gy = gypsum, Ag = silver].

The use of gold and silver responds to the iconographic rules of this signum regis and emphasizes the value of the privilegio rodado under study (Soterraña, 1959).

Illumination with gold traces back to antiquity but is especially common in the late Middle Ages and the Renaissance.

Powder micro-samples were collected from the lion (Figure 6.1c) and studied by micro-Raman and SEM-EDX. Two bands at 138 and 279cm^{-1} were observed by micro-Raman spectroscopy, which we attributed to the presence of PbO massicot (orthorhombic) [Bouchard and Smith, 2003]. Only lead was detected by SEM-EDX

analyses.

It is important to highlight the fact that examples of the use of minium (Pb_3O_4) for gilding have previously been described in the literature [Darque-Ceretti and Aucouturier, 2012] [Merrifield, 1849]. The darkening of lead-containing pigments is a widespread phenomenon in artworks; due to the environmental conditions, the byproducts of degradation are lead oxides/sulphides, for instance plattnerite (PbO_2) or galena (PbS) [Miguel et al., 2009]. When exposed to light and air, minium is not a particularly stable pigment and it turns brown, especially when it has been applied in a water colour or a tempera medium [Gettens and Stout, 1996] as usually employed in parchments.

In the case of the parchment, the detection of minium by XRD together with the bands observed by micro-Raman seems to indicate that there was a partial degradation or decomposition of the compounds initially applied, in this case minium. XRD analysed a large area where minium dominates, and micro-Raman was performed on a tiny volume of degraded matter, hence the detection of some type of lead oxide, massicot, as mentioned above.

6.3.4. Painted areas: yellow, blue, red, pink, green, white and black

In the yellow area of the capital letter (zone 8 in Figure 6.1a) and of the signum regis (zone 10 in Figure 6.1c), variable contents of lead and tin were detected by XRF (Figure 6.6a).

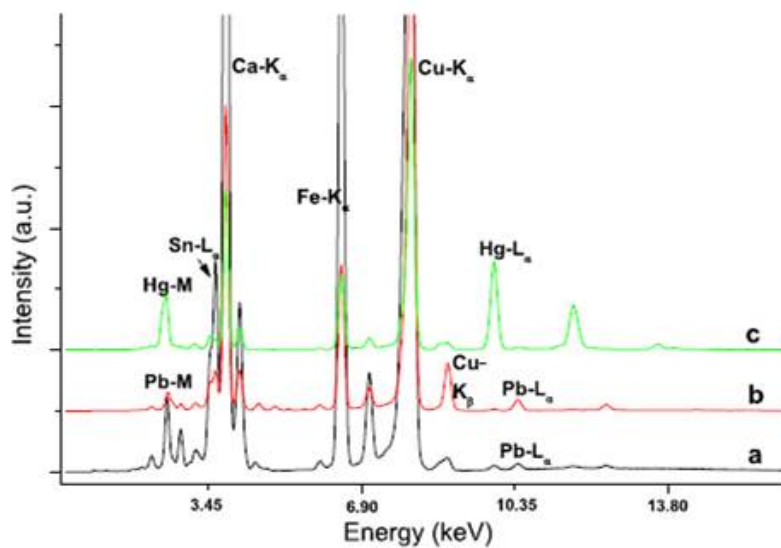


Figura 6.6: XRF spectra collected on: (a) yellow colour of the signum regis (10 in Fig. 6.1) and of the capital letter (8 in Fig. 6.1), (b) blue colour at the top and the bottom of the signum regis (11 and 12 in Fig. 6.1), (c) red colour of the castle in the rota of the seal (15 in Fig. 6.1).

The diffraction peaks in yellows are weak, indicating a small amount of crystalline matter; the XRD diagram corresponding to a yellow zone within the seal (10 in Figure 6.1c) showed the presence of lead tin yellow type I (Pb_2SnO_4) (Figure 6.7a).

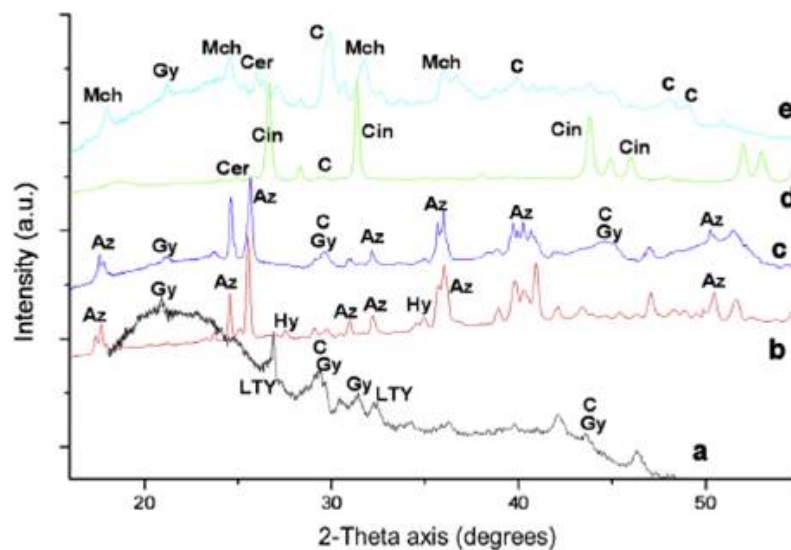


Figure 6.7: XRD diagrams corresponding to: (a) yellow colour of the signum regis (10 in Fig. 6.1), (b) blue colour in the top of the signum regis (11 in Fig.6.1), (c) blue colour at the bottom of the signum regis (12 in Fig. 6.1), (d) red colour of the castle in the rota of the seal (15 in Fig. 6.1), (e) green colour in the capital letter (16 in Fig. 6.1) [LTY = lead tin yellow type I, Gy = gypsum, C = calcite, Az = azurite, Hy = hydrocerussite (white lead), Cin = cinnabar (vermilion), Cer = cerussite (white lead), Mch = malachite].

In addition to this compound, gamboge (gambogic acid) was also detected in the similar area 9 by CE (Figure 6.8a). The identification was performed comparing the migration time and the UV-Vis spectrum obtained from a standard sample of gamboge, a gum resin obtained from the *Garcinia hanburyi* tree. Gamboge is a lightly-covering colour compound usually used for translucent layers. The two different colouring compounds could have been used in order to create an effect of relief or simply to increase the colour range of the illumination.

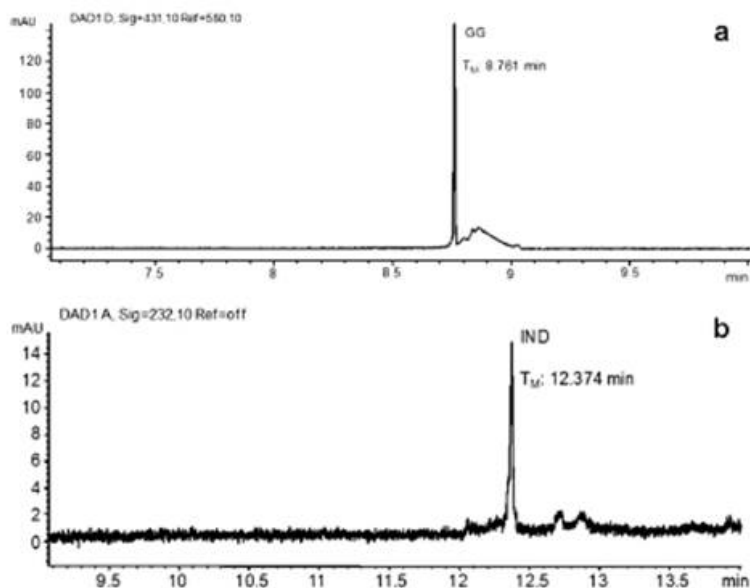


Figure 6.8: Electropherograms of: (a) yellow area of the capital letter (9 in Fig. 6.1), showing the presence of gamboge (gambogic acid, GC), (b) blue areas of the signum regis (12 in Fig. 6.1), showing the presence of indigo (indigotin, IND).

Differences in colour hues were found between the two blue zones within the signum regis (11 and 12 in Figure 6.1c). According to visual observation under a magnifying glass, the blue layer from the top right-hand is thicker than that of the bottom left-hand area. Azurite ($\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) and lead white (hydrocerussite, $\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) were detected by XRD (Figure 6.7b) in the top right-hand area (11). In the bottom left-hand area (12), calcite and gypsum together with azurite (Figure 6.7c) were detected. X-ray penetration was higher in the zone comprising azurite (10-15 μm) – even reaching the Ca-rich internal layers – than in the zone with lead white mixed with azurite where only superficial (1-2 μm in depth) composition was detected. Azurite contains copper. The Cu-K α line ($E=8.04$ keV) always appears in XRF spectra because of the copper X-ray source (Figures 6.3, 6.4 and 6.6). In these areas, the Cu-K β line ($E=8.91$ keV) (Figure

6.6b) is clearly visible, showing the presence of copper [Duran et al., 2010, 2011a, 2011b] [Eveno et al., 2010] [Gianoncelli et al., 2008].

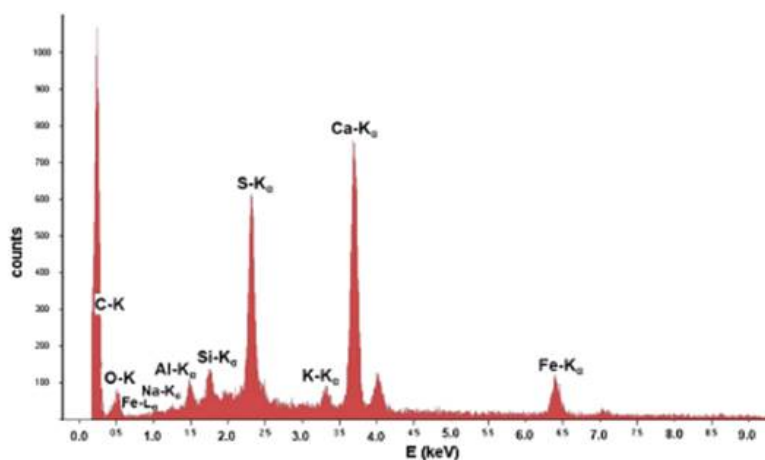


Figura 6.9: SEMeEDX analysis from the outer limits of the capital letter and the vegetable themes in black (17 in Fig. 6.1).

Blue micro-powder samples taken from the blue base of the small coat of arms with the tower (zone 13 in Figure 6.1b), the signum regis (zone 12 in Figure 6.1c) and also from the capital letter (zone 18) were analysed by CE-PDA in order to look for organic blue compounds. Indigo was identified in the vegetable themes of the signum regis with the rota (Figure 6.8b). The identification of indigo was performed comparing the migration time and the UV-Vis spectrum obtained from a standard sample of indigo from *Indigofera tinctoria* [López-Montes et al., 2007]. In this case, indigo could be used to modify the blue hue and to bring out the leaves. The results obtained from the analysis of the blue sample from the small coat of arms with the tower by CE-PDA showed a weak signal of indigo. The same area was analysed by XRF, XRD and SEMEDX, but no element attributed to blue pigments was identified therefore indicating this is an organic blue compound, probably indigo. In the capital letter, the signal obtained during the identification

was not intense enough. For these reasons, we could consider the possible presence of indigo as a contamination compound from the brush or the palette used during the making of the illumination.

Vermilion (red mercury sulphide, HgS, found in nature as the mineral cinnabar or obtained synthetically, both varieties being undistinguishable via the analytical methods used) was the compound responsible for the reddish colours in the capital letter (zone 14 – reddish pink – in Figure 6.1a) and the castle within the signum regis (zone 15 – red – in Figure 6.1c) as shown by XRF (mainly Hg and S – Figure 6.7c-) and XRD (Figure 6.7d). No red organic dye was detected by CE-PDA.

Malachite ($\text{Cu}_2(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) was detected in the green areas of the capital letter (16 in Figure 6.1a) as shown by the presence of intense Cu-K β peaks in the XRF spectra, and by XRD (Figure 6.7e).

Lead white was found in some of the painted areas together with different pigments, possibly used to whiten the hue or as an extender.

The limits of the capital letter and the enclosed vegetable themes enclosed are outlined in black (17 in Figure 6.1a). These lines were analysed by XRD, XRF and SEMEDX.

Calcium (that corresponds to the preparation of the parchment), carbon, sulphur and iron were detected by using the aforementioned techniques (C only by SEM-EDX).

Taking this approach, we can deduce that a mixed ink was used for these lines because of the presence of iron with a high amount of carbon (Figure 6.9). This mixing was usual because the carbon provides more resistance to alteration than the iron-based ink and a darker black colour [Matteini and Moles, 2001]. The difference between the colour of the ink used for writing (brown) (section 6.3.2) and the colour used for drawing (black in the signum regis and other zones) in this parchment is considerable.

The pigments found in the coloured areas (Figure 6.1) are mostly crystalline materials, and therefore are detected by XRD.

6.4. CONCLUSIONS

The use of a portable XRD and XRF system enabled the proper identification of the colouring materials used on the illuminated parchment with the exception of organic matter (gamboge and indigo) that was detected by CE-PDA. This analytical methodology, based on a portable XRF-XRD, is appropriate for the study of a wide variety of pigments in graphic documents, especially ancient parchments where crystalline materials are dominant. These techniques were successfully applied to the identification of the materials present in a 15th Century privilegio rodado on parchment.

However, XRF-XRD equipment with a fine X-ray beam (below 0.5 mm is now available) is necessary for tiny illuminated works. The pigments found in the privilegio rodado of Enrique IV of Castile are similar to those described in other similar artworks, made in various places around Western Europe, such as: the Portuguese manuscript the Charter of Vila Flor from 1512 [Moura et al., 2007], a painted and drawn parchment from the late 15th Century (or the beginning of the 16th) partly attributed to Andrea Mantegna [Bruni et al., 2008]; an excerpt from an illuminated 15th or 16th Century book of tides [Van der Snickt et al., 2008]; or the foral charter parchment from 1514 in which Manuel I of Portugal attributed the foral charter to the village of Sintra [Manso et al., 2013].

A number of unusual aspects in the paint layers are described in the article: (i) the degradation of minium, producing massicot, could be associated to a more general alteration of the parchment (calcium oxalate is suspected in places) that requires further detailed study; (ii) the absence of lapis lazuli (ultramarine) blue, considered to be a costly pigment and possibly expected in a royal document; (iii) the presence of gamboge, the most unusual of the yellow colorants, was identified. Also, small XRF peaks due to chlorine or barium were sometimes observed; (iv) the study of the black colour confirmed that the text and decorations were produced by two different hands, according to the tradition in the execution of such documents.

Looking at archival documents from an interdisciplinary point of view permits an understanding that goes beyond the mere documental study, leading to a richer description that takes into account the context of the document's production and its custodial history.

Capítulo 7

Conclusion

Les études que nous avons effectuées pour cette thèse doctorale montrent que l'art et la chimie sont fortement liés l'un à l'autre au profit de la conservation et de la restauration des objets patrimoniaux.

Les analyses chimiques nous aident à identifier les matériaux artistiques, à connaître leurs caractéristiques chimiques et physiques et à comprendre les processus de vieillissement et de détérioration.

Il est important de souligner que la réalisation de ces analyses est conditionnée à la quantité d'échantillon disponible, souvent très faible dans le cas des matériaux qui composent les œuvres d'arts et les objets historiques, et que cela exige d'adapter les techniques d'analyse chimique classiques.

La caractérisation et l'identification ne constituent pas uniquement un ensemble de données et mesures de type quantitatif sans lien entre elles, sinon qu'elles doivent aider à établir un référentiel pour réaliser des études comparatives pertinentes sur des ensembles d'objets. L'information obtenue facilite la contextualisation historique et la compréhension des procédés de fabrication aide à connaître l'état de conservation des objets et à élaborer des protocoles de conservation-restauration.

Cette thèse doctorale est centrée sur l'importance de l'identification des colorants dans les documents graphiques, photographiques et textiles du patrimoine culturel. Afin de parvenir à des résultats les plus complets possibles sur la couleur, dans certains cas nous avons élargi les collaborations entre chercheurs.

Il faut en effet souligner l'importance de la collaboration interprofessionnelle

et multidisciplinaire au sein de la recherche sur le patrimoine culturel. Il est évident que l'apport d'autres chercheurs a été indispensable pour la caractérisation des matériaux, le développement des nouvelles méthodologies et, surtout, pour l'interprétation des résultats.

Plus précisément, nous avons d'abord fait une sélection de colorants employés depuis l'origine de l'histoire de l'art (colorants organiques naturels) jusqu'à notre époque (colorants synthétiques), ces derniers ayant fait l'objet principal de ce travail.

Actuellement, il existe environ 5000 colorants pour le cuir, le papier, les textiles et les aliments. Cela ne veut pas dire que notre œil soit capable de différencier autant de nuances de couleurs, mais l'existence de ces nombreux produits traduit une évolution basée sur des considérations strictement techniques, si ce n'est purement commerciales.

Au total 9 techniques ont été adaptées pour la caractérisation des colorants et de leurs matériaux associés, présents dans les objets du patrimoine culturel. L'application des nouvelles méthodologies développées dans chaque chapitre a été faite sur des couches colorées de documents graphiques, d'objets photographiques et de textiles.

Les résultats obtenus montrent les énormes possibilités que les techniques d'analyse chimique offrent pour l'étude des matériaux du patrimoine. Ainsi, nous avons pu vérifier qu'il est indispensable de bien connaître les processus de vieillissement pour une identification exacte des matériaux anciens, et tout spécialement des colorants, puisque les modifications qu'ils ont pu subir pendant leur vieillissement peuvent changer leurs caractéristiques physiques et chimiques.

À propos des techniques d'analyse classiques utilisées, l'électrophorèse capillaire avec un système de détection par barrette de diodes (CE-PDA) a permis l'identification simultanée des colorants et du liant dans les couches colorées de documents graphiques. La méthode proposée permet de réduire remarquablement le nombre de prélèvements de matière puisqu'avec un unique échantillon nous avons pu identifier tous les composants de la couche picturale en une seule analyse. Les informations obtenues grâce à l'étude par cette technique de la collection de parchemins conservés aux archives de la Chancellerie Royale de Grenade (Espagne) facilitent la reconstruction historique et aident à mieux comprendre les procédés d'élaboration des manuscrits enluminés. Nous avons pu déterminer par exemple que la gomme arabique était habituellement employée comme liant pour

les enluminures des parchemins et comprendre certaines préférences des ateliers sur les matières colorantes employées.

La même technique de CE, avec une détection PDA ou en couplage avec la spectrométrie de masse par électronébulisation (ESI-MS), nous a permis d'élaborer des méthodes sensibles et efficaces pour la séparation et l'identification des colorants organiques synthétiques utilisés dans les autochromes Lumière, premières photographies couleurs du début du 20ème siècle. L'application analytique a été faite sur un filmcolor, dernière version commerciale de l'autochrome. En effet, peu d'informations ont été publiées sur la nature des colorants employés pour la fabrication de ces objets photographiques et l'analyse chimique a été indispensable pour renseigner plus précisément les colorants présents et la complexité matérielle de ces objets.

Le travail sur les colorants synthétiques utilisés pour la teinture textile nous a montré qu'un même colorant, de composition chimique bien connue, peut être transformé afin d'améliorer ses qualités tinctoriales et faciliter son application à différents types de textiles.

De plus, comme nous avons pu le constater lors de nos recherches bibliographiques, les colorants organiques synthétiques sont rarement mentionnés dans la littérature en conservation-restauration, ce qui donne la fausse impression que ces colorants ont été peu employés, alors qu'ils sont une des principales sources de teinture industrielle. L'identification de ces colorants et des additifs associés donne des informations de grande importance dans le champ de l'histoire industrielle moderne, l'archéométrie et l'évolution de la formulation par l'industrie. La recherche sur la collection de colorants de l'école de Verviers, nous a permis de proposer un protocole pour leur classement et leur caractérisation à partir de méthodes d'analyses spectrométriques et séparatives.

Finalement, toutes les connaissances acquises et la possibilité de collaborations internationales ont permis la caractérisation complète d'un important document en parchemin illuminé du XV^e siècle. Pour ce faire nous avons exploité les possibilités techniques d'un équipement non-invasif de diffraction des rayons X (XRD) et fluorescence X (XRF) couplées pour l'identification in situ des matériaux inorganiques de ce document graphique. Cette technique permet d'éviter le transport de l'objet et le prélèvement. Le respect de l'intégrité physique de l'œuvre est donc maximal. Cependant, pour l'étude complète des matériaux colorants, et plus spécialement celle des colorants organiques, il a fallu recourir à d'autres techniques afin de com-

pléter l'information, et dans ce cas le prélèvement de matière sous la forme d'un micro-échantillon s'est avéré indispensable. Pour caractériser ce micro-échantillon nous avons utilisé l'électrophorèse capillaire, la spectroscopie micro-Raman et la microscopie électronique à balayage (MEB).

En résumé, bien qu'elles aient été effectuées sur des objets individuels, ces analyses seront la base d'une étude comparative future avec d'autres documents historiques similaires, ce qui permettra une reconstruction des processus d'élaboration et une meilleure détermination des conditions de conservation et des techniques de restauration.

Perspectivas

Los métodos de análisis se han adaptado a las condiciones particulares en cada caso. Durante el proceso se ha empezado a dibujar nuevas líneas de investigación que arrancan de las cuestiones que los investigadores nos hemos ido planteando durante las discusiones de los resultados.

Para comenzar, y siguiendo con el espíritu de conocer en profundidad el comportamiento de los colorantes, se pretende continuar programando más experimentos que arrojen luz sobre las transformaciones químicas y físicas que se producen en ellos. Además este trabajo se ampliará con el estudio de la posible interacción entre los materiales originales y los materiales empleados en tratamientos de conservación-restauración.

Para evaluar las posibles alteraciones sufridas por los colorantes se podrá emplear la misma metodología analítica desarrollada en los trabajos de investigación expuestos ya que se ha demostrado su eficacia.

Por otra parte, al tratar con matrices complejas debido a la gran cantidad de aditivos y contaminantes que las capas de color contienen debido al modo de trabajo de un artista o un artesano, hay que asegurar que las identificaciones sean correctas. Se debe comenzar definiendo cómo hacer un muestreo significativo y proponer tratamientos de muestras cuyo proceso no interfiera en la interpretación de los resultados, debido a la especial sensibilidad de los colorantes, como se ha presentado en el capítulo 2.

Por último, consiguiendo una gran base de datos de los materiales empleados en colecciones, se podría hacer un mapa por zonas o talleres con los procesos y materiales más empleados. Podría darse el caso de llegar a saber qué taller elaboró un cierto documento, si había intercambio de información entre zonas cercanas, y qué influencias propiciaron los cambios de elaboración o el retroceso a técnicas más tradicionales, consiguiendo, de este modo, la ubicación geográfica y cronológica de objetos carentes de data.

Bibliografía

- Aceto, M., Agostino, A., Fenoglio, G., Baraldi, P., Zannini, P., Hofmann, C., Gamillscheg, F., First analytical evidences of precious colourants on Mediterranean illuminated manuscripts. *Spectrochimica Acta A* 95 (2012) 235-245.
- Aceto M., Agostino, A., Fenoglio, G., Idone, A., Gulmini, M., Picollo, M., Ricciardie, P., Delaneyf, J.K. Characterisation of colourants on illuminated manuscripts by portable fibre optic UV-visible-NIR reflectance spectrophotometry. *Analytical Methods* 6 (2014) 1488-1500.
- Ahn, C., Obendorf, S. K. Dyes on archaeological textiles: Analyzing alizarin and its degradation products. *Textile research J.* 74 (2004) 949-954.
- Balfour-Paul. J. "Indigo", British Museum Press. London (1998).
- Barnett, J.C. Synthetic organic dyes, 1856-1901: an introductory literature review of their use and related issues in textile conservation. *Reviews in conservation* 8 (2007) 67-78.
- Bello Urgellès, C., Borrel Crehuet, A. "El patrimonio bibliográfico y documental. Claves para su conservación preventiva", Trea, Gijón (2002).
- Billmeyer, F.W., Saltzman, Jr. M. "Principles of color technology", 2nd edition. John Wiley & Sons, Inc. United States of America (1981).
- Blanc, R., Espejo, T., López-Montes, A., Torres, D., Crovetto, G., Navalón, A., Vilchez, J.L. Sampling and identification of natural dyes in historical maps and drawings by liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatography A*, 1122 (2006) 105-113.

- Bazzarella, A., K Bächmann J. Separation and direct UV detection of sugars by capillary electrophoresis using chelation of copper(II). *J. Chromatography A* 799 (1998) 283-288.
- Bomford, D. "The History of colour in Art", en *Color: Art & Science*, T. Lqmb, J. Bourriau Edts., Cambridge University Press (1995).
- Bouchard, M., Smith, D.C., Catalogue of 45 reference Raman spectra of minerals concerning research in art history or archaeology, especially on corroded metals and coloured glass. *Spectrochimica Acta A* 59 (2003) 2247-2266.
- Bruni, S., Caglio, S., Guglielmi, V., Poldi, G., The joined use of n.i. spectroscopic analyses eFTIR, Raman, visible reflectance spectrometry and EDXRF e to study drawings and illuminated manuscripts. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 92 (2008) 103-108.
- Burandt, J., American Institute for Conservation Book and Paper, Group Annual 13 (1994).
- Buti, D., Domenici, D., Miliani, García Sáiz, T., Gómez Espinoza, T.C., Jiménez Villalba, F., Verde Casanova, A., Sabía de la Mata, A., Romani, A., Presciutti, F., Doherty, B., Brunetti, B.G. Sgamellotti, A. Non-invasive investigation of a pre-Hispanic Maya screenfold book: the Madrid Codex. *J. Archeological Science* 42 (2014) 166-178.
- Cardon, D. « Guide des teintures naturelles. Plantes-lichens champignons, mollusques et insectes », Delachaux et Niestlé editores, Paris (1990).
- Cela, R., Lorenzo, R.A. y Casas, M.C., "Técnicas separativas en química analítica", Ed. Síntesis, Madrid (2002).
- Chai, Y., Sun, H., Wan, J., Pan, Y., Sun, C. Hydride abstraction in positive-ion electrospray interface: oxidation of 1,4-dihydropyridines in electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst* 136 (2011) 4667-4669.
- Chen, K. "Analysis of reactive dye mixtures. Characterization of products from bis-dichlorotriazine dye synthesis", Thèse doctorale, Université de North Carolina State. (2006).

- Chiari, G. Saving art in situ. *Nature* 453 2008 159-160.
- Chigurupati, N., Saiki, L., Gayser, C., Dash, A.K. Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use, *Int. J. Pharmaceutics*, 241 (2002) 293–299.
- Chriment, A. De la couleur à la colorimétrie. Lumière, matière, perception. Les livrets du conservatoire, numero 0. Le Pays d’Apt en Couleurs. Ecole de printemps 2000, Apt et Roussillon (2000). Church, J.S., Davie, A.S., Scammells, P.J., Tucker, D.J., Lanazol Dyes and Wool Fibre. Part I: Model Studies on the Mechanism of Dye fixation in a Mixed Solvent System. *Dyes and Pigments* 39, 4 (1998) 191-312.
- Church, J.S., Davie, A.S., Scammells, P.J., Tucker, D.J., Lanazol Dyes and Wool Fibre. Part II: Model Studies on the Mechanism of Dye fixation in an Aqueous System,. *Dyes and Pigments* 39, 4 (1998) 313-333.
- Clamenti, C., Nowik, W., Romani, A., Cibin, F., Favaro, G. A spectrometric and chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on wool. *Analytica Chimica Acta* 596 (2007) 46-54.
- Clark, R.J.H., Gibas, P.J., *Analytical Chemistry*, 70 (1998) 99-108.
- Clarke, M., The analysis of medieval European manuscripts. *Reviews in conservation* 2 (2001) 3-17.
- Cech, N.B., Enke, C.G. Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals. *Mass Spectrometer Rev.* 20 (2001) 362–387.
- Cochet, S., Pesliakas, H., Kroviarski, Y., Cartron, J.P., Bertrand, O. Chromatography of bovine lacteserum on the immobilized metallized dye Dri-marene Rubine R/K 5BL Modulation of selectivity by metal exchange and application to purification of milk immunoglobulins, *J. Chromatography A*, 725 (1996) 237-247.
- Costa, C.T., Horton, D., Margolis, S.A. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography–mass spectrometry and capillary electrophoresis. *J. Chromatography A* 881 (2000) 403–410.

- Darque-Ceretti, É., Aucouturier, M., « Dorure: décor et sublimation de la matière », MINES ParisTech Presses des Mines (Ed.), Paris (2012).
- De Hamel, C. “Copistas e iluminadores, artesanos medievales”, Akal, Madrid (2001).
- Delamare F., Guineau, “Los colores, historia de los pigmentos y colorantes”, Claves, Barcelona (2000).
- Degano, I., Biesaga, M., Colombini, M.P., Trojanowicz, M. Historical and archaeological textiles: an insight on degradation products of wool and silk yarns. *J. Chromatography A*, 1218 (2011) 5837-5847.
- Déroche, F., « Manuel de codicologie des manuscrits en écriture arabe », Bibliothèque Nationale de France, Paris (2000).
- Dolgin, B., Bulatov, V., Schechter, I. Application of synchronous fluorescence to parchment characterization. *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 2151-2159.
- Doménech Carbó, A., Doménech Carbó, M.T., Mas Barberá, X. y Ciarrocci, J. Simultaneous identification of lead pigments and binding media in paint samples using voltammetry of microparticles, *Arché*, publicación del instituto universitario de restauración del patrimonio de la UPV, 2 (2007) 121-124.
- Durán, A. “Metodología de estudio y análisis de diferentes tipos de obra pertenecientes a la escuela sevillana de los siglos XVII y XVIII”, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla (2006).
- Duran, A., Castaing, J., Walter, P., X-ray diffraction studies of Pompeian wall paintings using synchrotron radiation and dedicated laboratory made systems. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 99 (2010) 333-340.
- Duran, A., Perez-Rodriguez, J.L., Jimenez de Haro, M.C., Franquelo, M.L., Robador, M.D. Analytical study of Roman and Arabic wall paintings in the Patio de Banderas of Reales Alcazares Palace using non-destructive XRD/XRF and complementary techniques. *J. Arch. Sci.* 38 (2011^a) 2366-2377.

- Duran, A., Franquelo, M.L., Centeno, M.A., Espejo, T., Perez-Rodriguez, J.L. Forgery detection on an Arabic illuminated manuscript by micro-Raman and Xray fluorecence spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* 42 (2011b) 48-55.
- Durán, A., López-Montes, A., Castaing, J., Espejo, T. Analysis of a royal 15th Century illuminated parchment using a portable XRF-XRD system and micro-invasive techniques. *J. Archaeological Science* 45 (2014) 52-58.
- Edwards, H.G.M., Newton, E.M., Russ, J. Raman spectroscopic analysis of pigments and substrata in prehistoric rock art. *J. Molercular Structure* 550-551 (2000) 245-256.
- Espejo, T., López-Montes, A., García-Bueno, A., Durán, A., Blanc, R., A study about colorant in the arabic manuscript collection of the Sacromonte Abbey, Granada, Spain. A new methodology for chemical analysis, *Restaurator* 28 (2008) 76-106.
- Eveno, M., Duran, A., Castaing, J., A portable X-ray diffraction apparatus for in situ analyses of masters' paintings. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 100 (2010) 577-584.
- Fakhari, A.R., Breadmore, M.C., Macka, M., Haddad, P.R. Non-aqueous capillary electrophoresis with red light emitting diode absorbance detection for the analysis of basic dyes. *Anal. Chim. Acta* 580 (2006) 188-193.
- Farry, L., Oxspring, D.A., Smyth, W.F., Marchant, R. A study of the effects of injection mode, on-capillary stacking and off-line concentration on the capillary electrophoresis limits of detection for four structural types of industrial dyes. *Anal. Chim. Acta* 349 (1997) 221-229.
- Flieder, F., Mise au point des techniques d'identification des pigments et des liants inclus dans la couche pectorale des enluminures de manuscrits. *Studies in Conservation* 13 (1968) 49-86.
- Floriano Cumbreño, A.C., "Curso General de Paleografía y Paleografía y Diplomatica Españolas", Universidad de Oviedo, Oviedo (1946).
- Fontrodona, J. "Gestion Integral de la RSE : El caso de Novartis en España", Foretica, Madrid (2005).

- García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J. Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up. *Food Control* 16 (2005) 293-297.
- Gatto Rotondo, G., Romano, F.P., Pappalardo, G., Pappalardo, L., Rizzo, F. Nondestructive characterization of fifty various species of pigments of archaeological and artistic interest by using the portable X-ray diffraction system of the LANDIS laboratory of Catania (Italy). *Microchemical J.* 96 (2010) 252-258.
- Gettens, R.J., Stout, G.L., "Painting Materials: a Short Encyclopedia", Dover Publications, Inc., New York (1996).
- Gianoncelli, A., Castaing, J., Ortega, L., Dooryhée, E., Salomon, J., Walter, P., Hodeau, J.L., Bordet, P. A portable instrument for in situ determination of the chemical and phase compositions of cultural heritage objects. *X-Ray Spectrom.* 37 (2008) 418-423.
- Gilabert, E. J. "Química textil. TomoII. Materias colorantes." Universidad Politecnica de Valencia, Valencia (2003).
- Girardin, M.J. « Leçon de chimie élémentaire appliquée aux arts industriels », G. Massan éditeur, Paris (1877).
- Gómez, M.L., « La restauración. Examen científico aplicado a la conservación de obras de arte », Cuadernos de arte cátedra, Madrid (2000).
- Gordon, P.F. y Gregory, P. "Organic Chemistry in colour", Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York (1983).
- Gosetti, F., Chiuminatto, U., Mazzucco, U., Mastroianni, R., Marengo, E. Ultra-high-performance liquid chromatography/tándem high-resolution mass spectrometry analysis of sixteen red beverages containing carminic acid: identification of degradation products by using principal component analysis/discriminant analysis. *Food Chemistry* 167 (2015) 454-462.
- Gröfl, M., Harrison, S., Kaml, I., Kenndler, E. J. Characterisation of natural polysaccharides (plant gums) used as binding media for artistic and historic

works by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatography A* 1077 (2005) 80-89.

- Guilhem, M. « Analyses spectrophotométriques de couches peintes rouges – Elaboration d’un programme Visual Basic en vue de l’exploitation des données colorimétriques », Rapport de stage de fin de 1ère année, Diplôme d’Ingénieur de l’E.N.S.P.S. Orléans (2003).
- Guineau, B., Villela-Petit, I., Roy, A., Smith, P. “Painting Techniques: History, Materials and Studio Practice”, *The International Institute for Conservation of Historic and Artistic Works*, Dublin (1998).
- Gulminia, M., Idoneb, A., Dianaa, E., Gastaldia, D., Vaudanc, D., Acetob M. Identification of dyestuffs in historical textiles: Strong and weak points of a non-invasive approach. *Dyes and Pigments* 98 (2013) 136-145.
- Hedayatullah, M. « Les colorants synthétiques », presses universitaires de France, Paris (1976).
- Hommerson, P., Khan, A.M., deJong , G.J., Somsen, G.W., Ionization techniques in capillary electrophoresis-mass spectrometry: Principles, design, and application, *Mass Spectrom. Rev.* 30 (60) (2011) 1096–1120.
- Hunt, R. W. G. The colour science of dyes and pigments. *Journal of Modern Optics*, 33 (8) (1986) 949-650.
- Hutchings, J., “Colour in folklore and tradition - The Principles”, *Color Res. Appl.* 29 (2004) 57-66.
- Knut, N. ”Manual de restauración de cuadros”, Könnemann, Eslovenia (1998).
- Kampasakali, E., Varella, E.A. The Russian avant-garde painting palette: Documentary and physicochemical codification of organic colorants *Journal of Cultural Heritage*, 9 (2008) 77–88.
- Kuckova, S., Nemeč, I., Hynek, R., Hradilova, J., Grygar, T., Analysis of organic colouring and binding components in colour layer of art work. *Anal Bioanal Chem* 382 (2005) 275-282.

- Kuo, K.-L., Huang, H.-Y., Hsieh, Y.-Z., High-performance capillary electrophoretic analysis of synthetic food colorants *Chromatographia* 47 (5/6) (1998) 249–256.
- Lavédrine, B. « Les Autochromes, Approche Historique Et Technologique Du Procédé. Etude des Problèmes Liés A Sa Conservation », Ph.D. Thesis, Université de Paris I–Panthéon–Sorbonne, Paris (1992).
- Lavédrine, B., Gandolfo, J.-P., Susbielles, J.-M. Preprints of the International Council of Museums Committee for Conservation 10th Triennial Meeting (1993) 275–280.
- Lavédrine, B., Gandolfo, J.-P. "Topics in photographic preservation, 5, Photographic Materials", Group of the American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works, Washington (1993).
- Lavédrine, B., von Waldthausen, C., Gannin, L. C., "Coating on Photographs: Materials, Techniques and Conservation, Photographic Materials" Group of the American Institute for Conservation of Historic and Artistic Works, McCabe (Ed.). Washington (2005).
- Lavédrine, B., Gandolfo, J.-P., « L'autochrome Lumière, secrets d'atelier et défis industriels », Collection archéologie et histoire de l'art no. 29CTHS, Paris (2009).
- Lee, J.-M., Moon-Sun, K., Byungho, H., Wookeun B., Byung-Woo K. Photodegradation of acid red 114 dissolved using a photo-Fenton process with TiO₂, *Dyes and Pigments* 56 (2003) 59-67.
- Lewis, D.M. "In wool Dyeing", Ed. D.M. Lewis Society of Dyers and Colourists Bradford, (1992).
- Liu, H., Zhu, T., Zhang, Y., Qi, A. S. Huang, Y. Sun., Determination of synthetic colourant food additives by capillary zone electrophoresis *J. Chromatogr. A* 718 (1995) 448–453.
- López Montes, A. "Importancia de la identificación de los componentes del color para la conservación y restauración del documento gráfico. Nuevas metodologías de análisis" Tesis Doctoral, Universidad de Granada (2006).

- López-Montes, A., Plata Rios, C., Blanc, R., Vilchez, J. L., Espejo, T. Estudio de los cambios inducidos por tratamientos de desacidificación en documentos gráficos, 16th International Meeting on Heritage Conservation, (2006) 537-549.
- López-Montes, A., Blanc, R., Espejo, T., Huertas-Perez, J.F., Navalón, A., Vilchez, J.L. Simultaneous identification of natural dyes in the collection of drawings and maps from the Royal Chancellery Archives in Granada (Spain) by CE. Electrophoresis 28 (2007) 1243-1251.
- López-Montes, A., Blanc García, R., Espejo, T., Vilchez, J.L., “Analyses of dyes in the map collection of the Real Chancillería of Granada”, Art Technological Source Research 2, London (2008).
- López-Montes, A., Espejo, T., Vilchez, J.L., Blanc, R. Notas sobre la identificación mediante técnicas de análisis químico del amarillo de azafrán envejecido artificialmente. Óptica pura y aplicada 41 (2008) 261-265.
- López-Montes, A., Dupont, A.L., Desmazières, B., Lavédrine, B. Identification of synthetic dyes in early colour photographs using capillary electrophoresis and electrospray ionization – mass spectrometry, Talanta 114 (2013) 217-226.
- Lozano, O., Castellar, M.R., Simancas, M.J., Iborra, L. Quantitative high-performance liquid chromatography method to analyse commercial saffron (*Crocus Sativus* L.) products, J. Chromatogr. A 830 (1999) 477-483.
- Luiz F.C. de Oliveira, Howell G.M. Edwards, Eudes S. Velozo, M. Nesbitt, Vibrational spectroscopic study of brazilin and brazilein, the main constituents of brazilwood from Brazil, Vibrational Spectroscopy 28 (2002) 243-249.
- Maltese, C. “Las técnicas artísticas”, Manuales de arte Cátedra, Madrid (1981).
- Manhita, A., Santos, V., Vargas, H., Candeias, A., Ferreira, T., Barrocas Dias, C. Ageing of brazilwood dye in wool – a chromatographic and spectrometric study, Journal of Cultural Heritage 14 (2013) 471-479.

- Manso, M., Le Gac, A., Longelin, S., Pessanha, S., Frade, J.C., Guerra, M., Candeias, A.J., Carvalho, M.L. Spectroscopic characterization of a masterpiece: the manueline foral charter of Sintra. *Spectrochim. Acta A* 105 (2013) 288-296.
- Masár, M., Kaniánsky, D., Madajová, V. Separation of synthetic food colourants by capillary zone electrophoresis in a hydrodynamically closed separation compartment. *J. Chromatography A* 724 (1996) 327–336.
- Matteini, M., Moles, A., “ La Química en la Restauración”, Nerea (Ed.), San Sebastian (2001).
- Mazanek, M., Kaml, I., Kenndler, E. Capillary electrophoresis: an alternative to chromatography for analysis of natural organic binders, *Studies in Conservation* 51 (2006) 139.
- McLaren, K. “The colour science of gyes and pigments”, Adam Hilger Ltd, Bristol and Boston, England (1986).
- Merrifield, M. “Original Treatises Dating from the XIIth to the XVIIIth Centuries on the Arts of Paintings, in Oil, Miniature, Mosaic, and on Glass; of Gilding, Dyeing, and the Preparation of Colours and Artificial Gems”, Murray, John (Ed.), London (1849).
- Mejía, E., Ding, Y., Mora, M.F., García, C.D. Determination of banned Sudan dyes in chili powder by capillary electrophoresis *Food.Chem*, 102 (2007) 1027–1033.
- Meybeck, J. « Les colorants », Presses Universitaires de France, Paris (1963).
- Miguel, C., Claro, A., Pereira Gonçalves, A., Muralha, V.S.F., Melo, M.J., 2009. A study on red lead degradation in a medieval manuscript *Lorvao Apocalypse J. Raman Spectroscopy* 40 (1989) 1966-1973.
- Millani, C., Romani, A., Favaro, G. A spectrophotometric and fluorimetric study of some anthraquinoid and indigoid colorants used in artistic paintings. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 54 (1998) 581-588.

- Miliani, C., Domenici, D., Clementi, C., Presciutti, F., Rosi, F., Buti, D., Romani, A., Laurencich Minelli, L., Sgamellotti, A. Colouring materials of pre- Columbian codices: non-invasive in situ spectroscopic analysis of the Codex Cosp. *J. Archaeometry Science* 39 (2012) 672-679.
- Mokkaedem, M., Gareil, P., Belgaied, J.-E., Varenne, A. A new insight into suction and dilution effects in capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry via an electrospray ionization interface. Part I-Suction effect. *Electrophoresis* 29 (2008) 1957–1964.
- Montagna, G., Pigmrnyo, I. “Prontuario del l’arte e il restauro”, Nardini editore, Florencia (1993).
- Moura, L., Melo, M.J., Casanova, C., Claro, A. A study on Portuguese manuscript illumination: the Charter of Vila Flor (Flower town), 1512. *J. Cultural Heritage* 8 (2007) 299-306.
- Nastova, I., Grupce, O., Minceva-Sukarova, B., Turan, S., Yaygingol, M., Ozcatal, M., Martinovska, V., Jakovlevska-Spirovska, Z. Micro-Raman spectroscopic analysis of inks and pigments in illuminated medieval old-Slavonic manuscripts. *J. Raman Spectroscopy* 43 (2012) 1729-1736.
- Newton, « Le cercle des couleurs chromatiques de Newton ». «Opticks», London (1704) (rééditions nombreuses); K. T. A. Halbertsma, «A History of the Theory of Colour», Amsterdam (1949); R. S. Westfall, «The development of Newton’s theory of color», *Isis* 53, 339-358 (1962); John Gage, «Kulturgeschichte der Farbe: von der Antike bis zur Gegenwart», Ravensburg: Maier (1994).
- Orelli, L.R., García, M.B., Perillo, I.A., Tonidandel, L., Traldi, P. A comparison of the electron ionization and electrospray behaviour of some N,N´-disubstituted hexahydropyrimidines. *Rapid Commun. Mass Spectrometry* 20 (5) (2006) 823–828.
- Pangallo, D., Chovanova, K., Makova, A. Identification of animal skin of historical parchments by polymerase chain reaction (PCR)-based methods. *J. Archaeological Science* 37 (2010) 1202-1206.

- Peláez-Cid, A.A., Blasco-Sancho, S., Matysik, F.M. Determination of textile dyes by means of non-aqueous capillary electrophoresis with electrochemical detection *Talanta* 75 (2008) 1362–1368.
- Pérez-Urquiza, M., Beltrán, J.L. Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatography A* 898 (2000) 271–275.
- Pérez-Urquiza, M., Beltrán, J.L. Determination of the dissociation constants of sulfonated azo dyes by capillary zone electrophoresis and spectrophotometry methods. *J. Chromatography A* 917 (2001) 331–336.
- Pessanha, S., Manso, M., Carvalho, M.L. Application of spectroscopic techniques to the study of illuminated manuscripts: a survey. *Spectrochimica Acta B* 71-72 (2012) 54-61.
- Picton, L., Bataille, I., Muller, G. Analysis of a complex polysaccharide (gum arabic) by multi-angle laser light scattering coupled on-line to size exclusion chromatography and flow field flow fractionation. *Carbohydrate Polymers* 42 (2000) 23–31.
- Poiger, T., Richardson, S.D., Baughman, G.L. Analysis of anionic metallized azo and formazan dyes by capillary electrophoresis–mass spectrometry. *J. Chromatography A* 886 (2000) 259–270.
- Puchalska, M., Orlinska, M., Ackcha, M.A., Polec-Pawlak, K. y Jarosz, M. Identification of anthraquinone coloring matters in natural red dyes by electrospray mass, *J. Mass Spectrometry* 38 (2003) 1252-1258.
- Quandt A. Wallert, A. Roy, y Smith, P., “Pinting Techniques: History, Materials and Studio Practice” Contributions Congress The International Institute for Conservation of Historic and Artistic Works, Dublin (1998).
- Ricciardi, P., Delaney, R. Combining visible and infrared imaging spectroscopy with site specific, in-situ techniques for material identification and mapping. *Revista en História da arte* 1 (2011) 253-261.
- Roberts, P. “A Century of Colour Photography: from the Autochrome to the Digital Age”, Carlton publishing group, A. Deutsch (Ed.), London (2007).

- Roger P., Villela-petit I., Vandroy S. Les laques de brésil dans l'enluminure médiévale : reconstitution à partir de recettes anciennes . *Studies in conservation* 48 (3) (2003) 155-170.
- Rondao, R., Seixas de Melo, J. S., Vasco D., Bonifacio, B., Melo, M. J. J. Dehydroindigo, the Forgotten Indigo and Its Contribution to the Color of Maya Blue. *Physica. Chemistry A*, 114 (2010) 1699-1708.
- Rovio, A. Determination of monosaccharide composition in plant fiber materials by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatography A* 1185(2008)139-144.
- Ryvolová, M., Táborsky, P., Vrábel, P., Krásenský, P., Preisler, J. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J. Chromatography A* 1141 (2007) 206–211.
- Sainsbury, M. "Second Supplements to the 2nd Edition of Rodd's Chemistry of Carbon Compounds" Vol I, part 3, Malcolm Sainsbury, (1991) 361-382.
- Sarrazin, P., Chiari, G., Gailhanou, M. A portable non-invasive XRDeXRF instrument for the study of art objects. Denver X-Ray Conference, JCPDS-International Centre for Diffraction Data, USA (2008) 175-186.
- Sayewetz, A. « Revue générale des matières colorantes », août 1 939, (1939) 1.
- Scriba. G.K.E. Nonaqueous capillary electrophoresis–mass spectrometry. *J. Chromatography A* 1159 (2007) 28–41.
- Seixas de Melo, J., Moura, A.P., Melo, M.J. Photophysical and Spectroscopic Studies of Indigo Derivatives in Their Keto and Leuco Forms. *J. Physical Chemistry A* 108 (2004) 6975-6981.
- Selim, K., Tsimidou, M., Biliaderis, C.G. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices, *Food Chemistry* 71 (2000) 199-206.

- Senackerib, J.F. Colorants for Non-Textile Application, H.S. Freeman and A.T. Peters ed., Carolina, USA (2000).
- Serrano, A., Van Bommel, M., Hallett, J. Evaluation between UHPLC and HPLC analytical methods for characterizing natural dyestuff. *J. Chromatography A* (2013) 102-111.
- Seyewetz, A. « L'emploi des matières colorantes en photographie et en cinématographie ». *Revue générale de matières colorantes*, août 1939, 1-4 (1939).
- Sirén, H., Sulkava, R. Determination of black dyes from cotton and wool fibres by capillary zone electrophoresis with UV detection: Application of marker technique. *J. Chromatography A* 717 (1995) 149–155.
- Skoog, D.A., West, D.M. “Análisis Instrumental”, Ed. Mc Graw Hill, México (1989).
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, C., Crouch, “Fundamentos de la química analítica”, Thomson, Madrid (2005).
- Soterraña Martín Postigo, M. de la, “La Cancillería castellana de los Reyes Católicos”, Universidad de Valladolid, Valladolid (1959).
- Suzuki, S., Shirao, M., Aizawa, M., Nakazawa, H., Sasa, K., Sasagawa, H. Determination of synthetic food dyes by capillary electrophoresis. *J. Chromatography A* 680 (1994) 541–548.
- Thinakaran, N., Panneerselvam, P., Baskaralingam, P., Elango, D., Sivanesan, S. Equilibrium and kinetic studies on the removal of Acid Red 114 from aqueous solutions using activated carbons prepared from seed shells, *Journal of Hazard Materials* 158 (2008) 142-150.
- Uda, M., Ishizaki, A., Satoh, R., Okada, K., Nakajima, Y., Yamashita, D., Ohashi, K., Sakuoroba, Y., Shimono, A., Kojima, D. Portable X-ray diffractometer equipped with XRF for archaeometry. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 239 (2005) 77-84.
- Vandenabeele, P., Wehling, B., Moens, L., Edwards, H., De Reu, M., Van Hollydonk, G., Analysis with micro-Raman spectroscopy of natural organic

binding media and varnishes used in art, *Analytica Chimica Acta* 407 (2000) 261-274.

- Van der Snickt, G., De Nolf, W., Vekemans, B., Janssens, K., Micro-XRF/micro-RS vs. SR micro-XRD for pigment identification in illuminated manuscripts. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 92 (2008) 59-68.
- Vest, M., Wouters, J. “Dyestuffs and pigments in 12th to 18th Century alum tawed vookbinding leather in European Collections”, *ICOM Committee for Conservation* 2 (1999) 714.
- Vogt, C., Vogt, J., Becker, A., Rohde, E., Separation, comparison and identification of fountain pen inks by capillary electrophoresis with UV-visible and fluorescence detection and by proton-induced X-ray emission. *J. Chromatography A* 781 (1997) 391-405.
- VV.AA. « Institut Supérieur industriel textile. 100ème anniversaire 1894-1994 », Rubrique littéraire par anniversaire, Liege (1994).
- Walczak, M., Oujja, M., Crespo-Arcá, L., García, A., Méndez, C., Moreno, P., Domingo, C., Castillejo, M. Evaluation of femtosecond laser pulse irradiation of ancient parchment. *Appl. Surf. Sci.* 255 (2008) 3179-3183.
- Wallert, A. Verzino, R. Colours in 15th Century Italian Manuscripts, *Restauro* 92, 3 (1986) 52-70.
- Wouters, J., Verhecken, A., The coccid insect dyes: HPLC and computerized Diode-Array análisis of dyed yarns. *Studies in Conservation* 34 (1989) 189-200.
- Zhao, X., Lu, Y., Phillips, D.R., Hwang, H.-M., Hardin, I.R. Study of biodegradation products from azo dyes in fungal degradation by capillary electrophoresis/electrospray mass spectrometry. *J. Chromatography A* 1159 (2007) 217-224.
- Zlotnick, J.A., Smith, F.P. Separation of some black rollerball pen inks by capillary electrophoresis: preliminary data *Forensic Science International* 92 (1998) 269-280.

Apéndice A

Fichas descriptivas de los pergaminos seleccionados de la colección del Archivo de la Real Chancillería de Granada.

Información facilitada por el Archivo de la Real Chancillería de Granada, a través de su director D. David Torres Ibáñez, a quien se le está muy agradecido.

Publicación:

María José Mártir Alario: Colección de pergaminos del Archivo de la Real Chancillería de Granada. Colección Archivos. Instrumentos de descripción nº 43, Junta de Andalucía, Consejería de Cultura, Granada 2009.

Edita: JUNTA DE ANDALUCIA.

Consejería de Cultura

Produce: Empresa Pública de Gestión de Programas Culturales

Descripciones ISAD (G) e índices: María José Mártir Alario

Descripción ISDIAH: David Torres Ibáñez

Transcripciones: María Dolores Guerrero Lafuente (documentos nº 30, 32, 34, 35, 36, 57, 76, 79 y 112) y David Torres Ibáñez (documento nº 129)

Coordinación: David Torres Ibáñez

© De la edición: JUNTA DE ANDALUCÍA. Consejería de Cultura

© De los textos y transcripciones: sus autores

© De las imágenes: Archivo de la Real Chancillería de Granada (archivo informático)

D.L.:GR 3068-2009

1.1 [Código de referencia]: ES 18087.ARCH/060CDMA.Colección de documentos manuscritos.

7.2. [Reglas o Convenciones] La descripción a nivel de colección se ha adaptado a la *ISAD (G) Norma Internacional General de Descripción Archivística*, adoptado por el Comité de Normas de Descripción. Consejo Internacional de Archivos. Estocolmo, Suecia 19-22 de septiembre de 1999. Ministerio de Cultura, Madrid 2000, 2ª edición. Para la catalogación de los pergaminos pontificios se ha seguido la clasificación de THOMAS FRENZ: *I documenti pontifici nel Medioevo e nell'Età Moderna. Ed. italiana de Sergio Pagano*. Escuela Vaticana de Paleografía, Diplomática y Archivística, Ciudad del Vaticano 1998 (2ª ed.) (*Littera Antiqua 6, Subsidia Studiorum 1*).

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 1.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de los Reyes Católicos de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Luis Pérez con el concejo de Fuente de Cantos (Badajoz).
- 1.3 [Fecha (s)] 1499, marzo, 19. Ciudad Real.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 10 hojas. 325 x 215 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Nombres del rey y la reina en tinta roja. Hilos de seda en amarillo, rojo y verde. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18087.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 4.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Juana de Castilla de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Gonzalo de Zarzuela con el concejo de Valdeganga (Cuenca).
- 1.3 [Fecha (s)] 1514, mayo, 5. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 15 hojas. 320 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1515, febrero, 22. Valdeganga (Cuenca). Fórmula de obediencia. 1593, abril, 29. La Parra (Murcia). Fórmula de obediencia. 1602, abril, 20. Albadalejo (Murcia). Fórmula de obediencia.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Inicial orlada en tinta roja y violeta. Estado de conservación regular.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071. ARCHGR / 01RACH / 058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 4844 -7; ES.18087. ARCHGR / 057CPCH // 4701-1; ES.18087.ARCHGR /057 CPCH //4541-18.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
 - 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 8.
 - 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Juan II de la sentencia en el pleito sobre hidalguía de Fernán Sánchez Abarca con el concejo de Navalón (Cuenca).
 - 1.3 [Fecha (s)] 1431, enero, 30. Valladolid.
 - 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 10 hojas, las nº 7, 8 y 9 incompletas. 290 x 210 mm.
 - 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
 - 3.1 [Alcance y contenido] Contenido: 1480, marzo, 16. Cuenca. Fórmula de obediencia. 1520, noviembre, 28. Torralba (Cuenca). Fórmula de obediencia.
 - 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
 - 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Inicial orlada en tinta roja y violeta. Hilos de seda en azul, blanco, rojo y verde. Estado de conservación malo. Restaurado.
 - 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH/058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
 - 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
 - 5.4 [Notas de publicaciones]
 - 6.1 [Notas]
-
- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
 - 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 12.
 - 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Juana de Castilla de la sentencia en el pleito sobre hidalguía de Pedro de Buedo con el concejo de Torrejoncillo (Cáceres).
 - 1.3 [Fecha (s)] 1515, enero, 23. Granada.
 - 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 7 hojas. Incompleto. 300 x 220 mm.
 - 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
 - 3.1 [Alcance y contenido]
 - 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.

4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Iniciales en azul y rojo. Estado de conservación bueno.

5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.

5.3 [Unidades de descripción relacionadas]

5.4 [Notas de publicaciones]

6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 17.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de los Reyes Católicos de la sentencia en el pleito sobre hidalguía de Francisco de Manzanedo, vecino de Villanueva de la Serena (Badajoz). Información de testigos.
- 1.3 [Fecha (s)] 1537, (sm; sm; sd; sl)
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 4 hojas. Incompleto. 320 x 220 mm
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1481, octubre, 10. Burgos. Petición.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales orladas en rojo, azul, oro y blanco. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087. ARCHGR /0 57CPCH // 5091-374.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 31.
- 1.2 [Título] Carta de Constitución de Mayorazgo de Simón Ruiz de Valera, alcalde y escribano público de Pedroche (Córdoba), e Inés Gutiérrez, su mujer, del tercio y quinto de sus bienes a favor de Francisca de Valera, su hija.
- 1.3 [Fecha (s)] 1513, junio, 11. Pedroche.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 16 folios, 3 en blanco. 280 x 210 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1520, junio, 13. Pedroche. Escritura de aceptación.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Letra inicial orlada en tinta roja y negra. Hilos de seda en rojo y verde. Estado de conservación regular.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 35.
- 1.2 [Título] Traslado de Carta de Privilegio y Confirmación de los Reyes Católicos a petición de Fray Pedro de Oña, prior del monasterio de la Santísima Trinidad de Burgos, por la que se concedían a la Orden Trinitaria mercedes para recoger limosnas, mantener hospitales y redimir cautivos. Confirma otras Enrique IV, Juan II, Enrique III, Juan I, Enrique II, Alfonso XI y Fernando IV.
- 1.3 [Fecha (s)] 1506, mayo, 11. Burgos.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 16 hojas. 240 x 180 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: Cuadro P35 1304, abril 6. Burgos. Privilegio y confirmación de Fernando IV. Doc 1 1315, octubre, 27. Burgos. Privilegio y confirmación de Alfonso XI. Doc 2 1324, abril, 16. Segovia. Privilegio y confirmación de Alfonso XI. Doc 3 1367, febrero, 5. Burgos. Privilegio y confirmación de Enrique II. Doc 4 1370, febrero, 26. Sevilla. Privilegio y confirmación de Enrique II. Doc 5 1371, marzo, 23. Valladolid. Privilegio y confirmación de Enrique II. Doc 6 1379, agosto, 13. Burgos. Privilegio y confirmación de Juan I. Doc 7 1379, agosto, 13. Burgos. Privilegio y confirmación de Juan I. Doc 8 1394, enero, 29. Illescas. Privilegio y confirmación de Enrique III. Doc 11 1421, agosto, 1. Valladolid. Privilegio y confirmación de Enrique III. Doc 12 (sf) Privilegio y confirmación de Juan II. Doc 13 1455, agosto, 15. Écija. Privilegio y confirmación de Enrique IV. Doc 14 1498, mayo, 7. Toledo. Privilegio y confirmación los Reyes Católicos. Doc 15
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Inicial orlada en tinta roja. Estado de conservación regular.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH/ 058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones] GUERRERO LAFUENTE, M^a D.: Documentos reales del Archivo de la Real Chancillería de Granada (1304- 1554). Historia Medieval I. Actas del II Congreso de Historia de Andalucía. Córdoba, 1991, pp. 171-184.
- 6.1 [Notas] Transcripción.Doc. completo 35

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 36.
- 1.2 [Título] Carta de Privilegio y Confirmación de Juana de Castilla concediendo a los beneficiados y sacristanes de la Iglesia de Santa María de la Alhambra de Granada los bienes de habices. Confirma albalá y real provisión, señalamiento de bienes de habices, de Granada y su término y otros documentos. Así mismo ordena la concesión anual de 49.000 maravedíes, procedentes de los bienes habices reales por juro de heredad.
- 1.3 [Fecha (s)] 1509, septiembre, 26. Valladolid.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 22 hojas. 310 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1508, octubre, 13. Córdoba. Real provisión. Doc 1 1509, septiembre, 14. Valladolid. Albalá. Doc 2
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Hilo de seda en amarillo, azul y rojo. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones] GUERRERO LAFUENTE, M^a D.: Documentos reales del Archivo de la Real Chancillería de Granada (1304- 1554). Historia Medieval I. Actas del II Congreso de Historia de Andalucía. Córdoba, 1991, pp. 171-184.
- 6.1 [Notas] Transcripción.Doc completo 36

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 44.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Juan II de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Alfonso Sánchez Ferrezuelo y Juan Alfonso y Diego Alfonso, sus hermanos, con el concejo de Casas de Reina (Badajoz).
- 1.3 [Fecha (s)] 1426, octubre, 16. Tudela de Duero.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 10 hojas. Guardas en pergamino. 340 x 260 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Minúscula diplomática. Sepia. Inicial iluminada en oro y rojo. Hilos de seda en amarillo, azul, blanco, crema y rojo. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 47.
- 1.2 [Título] Certificaciones de Hidalguía expedidas por el Cabildo de Murcia a petición de Francisco Fernández de Bastida y Alarcón y Juan, Pedro y Ginés Fernández de Bastida y Alarcón, sus hermanos, vecinos de Librilla.
- 1.3 [Fecha (s)] 1579, junio, 27. Murcia.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 11 folios. 310 x 230 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas. Tres escudos de armas iluminados. Estado de conservación bueno. Restaurado.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18071.ARCHGR / 057CPCH // 4639-8.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 48.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Carlos I de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Pablo Guillén con el concejo de Ampudia (Palencia).
- 1.3 [Fecha (s)] 1542, abril, 3. Valladolid.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 20 hojas. Guardas en pergamino. 1h en blanco. 330 x 240 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1542, abril, 22. Ampudia. Fórmula de obediencia.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Capitales iluminadas en rojo y oro. Intitulación: capital iluminada con el escudo de armas familiar y orla con decoración renacentista. Hilos de seda en verde. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18071.ARCHGR / 057CPCH // 4534-14.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 49.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Carlos I de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Antonio de Vera con el concejo de Albacete.
- 1.3 [Fecha (s)] 1537, mayo, 31. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 26 hojas. Incompleto. 310 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas en azul, oro y rojo. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR/057CPCH // 4504-10; ES.18087.ARCHGR/057CPCH // 4692-250.
- 5.4 [Notas de publicaciones] REAL CHANCILLERÍA DE GRANADA. V CENTENARIO. 1505-2005. AA.VV. Edición: Javier Moya Morales, Eduardo Quesada Dorador y David Torres Ibáñez. Junta de Andalucía. Consejería de Cultura. 2006. pp. 186-187.
- 6.1 [Notas] La capital del inicio del fallo de la sentencia iluminada con el dibujo de los tres oidores.

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 50.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Carlos I de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Andrés González con el concejo de Valdeolivas (Cuenca).
- 1.3 [Fecha (s)] 1539, febrero, 13. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 27 hojas. 310 x 210 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1475, agosto, 18. Valladolid. Carta de privilegio. 1539, marzo, 2. Valdeolivas. Fórmula de obediencia.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas en azul, oro, rojo y verde. Intitulación: capital iluminada con retrato de Carlos V y orla decorada con escudo de armas familiar y motivos renacentistas. Hilos de seda en amarillo, rojo y verdes. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 4505-25.
- 5.4 [Notas de publicaciones] REAL CHANCILLERÍA DE GRANADA. V CENTENARIO. 1505-2005. AA.VV. Edición: Javier Moya Morales, Eduardo Quesada Dorador y David Torres Ibáñez. Junta de Andalucía. Consejería de Cultura. 2006. pp. 112-113.
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 51.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Carlos I de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Antón Ruiz y Gonzalo Ruiz, su hermano, con el concejo de Socuéllamos (Ciudad Real).
- 1.3 [Fecha (s)] 1535, septiembre, 7. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuadernos de 24 hojas. 2 hojas en blanco. 350 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas en azul, blanco y rojo. Intitulación: capital iluminada con un dibujo de la Virgen con el Niño y orla decorada con escudo de armas familiar y motivos renacentistas. Hilos de seda en amarillo, blanco, rojo y verde. Estado de conservación bueno. Restaurado.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR /01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 4502-39; ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 4508-51.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 52.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Felipe III de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Juan Sayago de Bolaños con el concejo de Fuente de Maestre (Badajoz).
- 1.3 [Fecha (s)] 1608, diciembre, 15. Madrid.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Tapas de cuero con dorados. 101 hojas, 3h en blanco. 310 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1514, mayo, 3. Madrid. Carta de privilegio. 1514, octubre, 8. Ventosilla. Sobrecarta. 1574, mayo, 24. Granada. Ejecutoria. 1514, agosto, 8. Granada. Autos. 1609, junio, 29. Fuente del Maestre. Fórmula de Obedecimiento.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Ilustraciones: Hoja primera: iluminada con la Virgen y los ángeles y debajo retrato de caballero y mujer. Hoja segunda: escudo de armas familiar. Hoja tercera: intitulación con capital iluminada y orla decorada, las tres con cubiertas de seda verde. Capitales del expositivo y del inicio del fallo y traslados de documentación real iluminadas en azul, oro, rojo y verde. Hilos de seda en amarillo, azul, rojo y verde. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH/ 058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 4621-4.
- 5.4 [Notas de publicaciones] REAL CHANCILLERÍA DE GRANADA. V CEN-TENARIO. 1505-2005. AA.VV. Edición: Javier Moya Morales, Eduardo Quesada Dorador y David Torres Ibáñez. Junta de Andalucía. Consejería de Cultura. 2006. pp. 178-181.
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 57.
- 1.2 [Título] Carta de privilegio al concejo de Cózar otorgándole título de villa y jurisdicción propia, eximiéndola de la de Montiel (Ciudad Real), de la Orden de Santiago.
- 1.3 [Fecha (s)] 1554, abril, 19. Valladolid.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 6 hojas. 320 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1552, mayo, 18. Argentina. Carta de poder.Doc 1
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas en rojo y oro. Primera hoja orla coloreada con decoración renacentista y capital inicial iluminada con escudo real. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones] GUERRERO LAFUENTE, M^a D.: Documentos reales del Archivo de la Real Chancillería de Granada (1304- 1554). Historia Medieval I. Actas del II Congreso de Historia de Andalucía. Córdoba, 1991, pp. 171-184.
- REAL CHANCILLERÍA DE GRANADA. V CENTENARIO. 1505-2005. AA. VV. Edición: Javier Moya Morales, Eduardo Quesada Dorador y David Torres Ibáñez. Junta de Andalucía. Consejería de Cultura. 2006. pp. 114-115.
- 6.1 [Notas] Transcripción.
- Doc completo El lugar de Argentina corresponde a alguna localidad de Europa central.

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 58.
- 1.2 [Título] Testimonios de Privilegios de Hidalguía e Infanzonía otorgados a Hernán Pérez de Tudela, vecino de Lorca (Murcia). Incluye petición y probanza.
- 1.3 [Fecha (s)] 1564, enero, 29.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 14 hojas. Guardas en pergamino. 320 x 220 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1462, julio, 3. Calatayud. Privilegio de Hidalguía.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual y humanística. Sepia. Capitales iluminadas en rojo y azul e inicial orlada en la intitulación del traslado. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18087.ARCHGR / 057CPCH // 5120-9.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 59.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Hidalguía de Juana de Castilla de la sentencia en el pleito sobre la hidalguía de Gaspar Mogollón con el concejo de Alanje (Badajoz).
- 1.3 [Fecha (s)] 1515, marzo, 17. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 19 hojas. 320 x 220 mm
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Intitulación en rojo con escudo de armas familiar. Hilos de seda en colores en amarillo, blanco, rojo y verde. Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 71.
- 1.2 [Título] Título de Bachiller en Derecho Canónico concedido por la Universidad de Salamanca a Juan Ocón de Trillo, natural de Antequera (Málaga).
- 1.3 [Fecha (s)] 1564, abril, 21.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. 310 x 460 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Latín.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual y cortesana. Negra y roja. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 116.
- 1.2 [Título] Certificado de Rey de Armas. Diego de Urbina, rey de armas, certifica el linaje y armas de los linajes Díaz y Palencia, a petición de Alonso Díaz de Palencia, escribano del número y vecino de Granada.
- 1.3 [Fecha (s)] 1587, septiembre, 24. Madrid.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. 300 x 440 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido] Contiene: 1587, septiembre, 30. Madrid. Certificado notarial.
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Humanística. Sepia. Escudo de armas iluminado en colores. Estado de conservación bueno. Restaurado.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18071.ARCHGR / 057CPCH // 5155-15.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: item]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 121.
- 1.2 [Título] Carta de Privilegio de Claudio Aquaviva, General de la Compañía de Jesús, a favor de Francisca de Córdoba y Beatriz de Monsalve y Córdoba, hermanas, por un patronato fundado en un colegio de Écija (Sevilla).
- 1.3 [Fecha (s)] 1598, noviembre, 26. Roma.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. 320 x 400 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Latín.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Humanística. Sepia. Orla de colores decorada con motivos renacentistas. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas] Roto.

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
 - 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 127.
 - 1.2 [Título] Carta Real de Jacobo II de Inglaterra reconociendo la hidalguía de Nicolás Aylivard, natural de Hibernia, Irlanda, ahora en España.
 - 1.3 [Fecha (s)] 1700, septiembre, 1. Saint Germain.
 - 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Vitela. 1 hoja. 290 x 360 mm.
 - 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Latín.
 - 3.1 [Alcance y contenido]
 - 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
 - 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Humanística. Negra. Sello.
- Estado de conservación bueno.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
 - 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
 - 5.4 [Notas de publicaciones]
 - 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 157.
- 1.2 [Título] Real Provisión Ejecutoria de Carlos I de la sentencia en el pleito entre los concejos de Mazarulleque y Salceda Trasierra de la Jurisdicción de Huete (Cuenca) sobre el uso común del poblado de Villanueva la Seca.
- 1.3 [Fecha (s)] 1524, octubre, 15. Granada.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. Cuaderno de 12 hojas. Incompleta. 330 x 240 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Letras capitales iluminadas de colores. Estado de conservación bueno. Restaurado.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital. ES.18071.ARCHGR/01RACH /058. Serie Registro del Sello de Chancillería.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 174.
- 1.2 [Título] Certificado de Rey de Armas de las armas del linaje de Alfonso Martínez Merlín, a petición del licenciado Molina, pintado por Diosdado de Olivares, vecino de Burgos.
- 1.3 [Fecha (s)] (sa), febrero, 14. Burgos.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. Incompleto. 300 x 210 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Castellano.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Dibujo de caballero con escudo de armas a colores. Estado de conservación bueno. Restaurado.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas]

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 180.
- 1.2 [Título] Hoja de libro de coro con cantos relativos a la Natividad.
- 1.3 [Fecha (s)] (sf; sl)
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. Incompleto. 400 x 300 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Latín.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Negra. Capitales iluminadas en azul, rojo y negro. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas]
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas] Hoja de libro de coro empleada como guarda.

- 1.4 [Nivel de descripción: ítem]
- 1.1 [Código de referencia] ES.18087.ARCHGR/060CDMA//Pergamino nº 188.
- 1.2 [Título] Carta de Privilegio del Cabildo Lateranense sobre el patronato y ermita de la Cruz en el Cerro del Infante en Antequera (Málaga) que fundó María Ruiz de la Rubiana, vecina de Antequera.
- 1.3 [Fecha (s)] 1513, octubre, (probable; sd). Roma.
- 1.5 [Volumen y soporte de la unidad de descripción (cantidad, tamaño o dimensiones)] Pergamino. 1 hoja. Incompleto. 670 x 580 mm.
- 4.3 [Lengua/escritura (s) de los documentos] Latín.
- 3.1 [Alcance y contenido]
- 3.4 [Organización] 01.RACH.060. Colección de documentos manuscritos.
- 4.4 [Características físicas y requisitos técnicos] Gótica textual. Sepia. Intitulación destacada e iluminada. Estado de conservación malo.
- 5.2 [Existencia y localización de copias] Copia digital.
- 5.3 [Unidades de descripción relacionadas] ES.18071.ARCHGR / 057CPCH // 12261-1.
- 5.4 [Notas de publicaciones]
- 6.1 [Notas] Relacionado con los pergaminos 152 y 189.

Apéndice B

Fiche de description de la
sélection des colorants de la
collection de l'Institut Supérieur
Industriel Textile de Verviers

FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B6 – P12

Couleur : Rouge

Nom : Terasil Scharlach G R

Fabricant : Ciba - Geigy

C.I. : Disperse rouge 169

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 504 ; 552

Min. dérivée (nm) : 658

Max. Spectre Uv-vis : 285 ; 483

Éléments Spectre de fluorescence X :

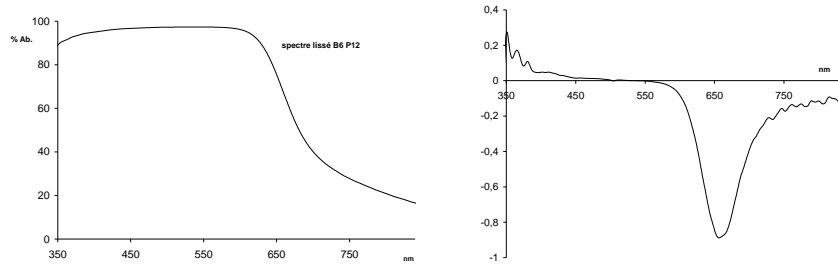
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	875	198	36	1,1	0
2	Cl	K12	2,622	16	1668	207	46	1,01	0
3	K	K12	3,314	16	776	122	32	1,15	0

Coordonnées colorimétriques :

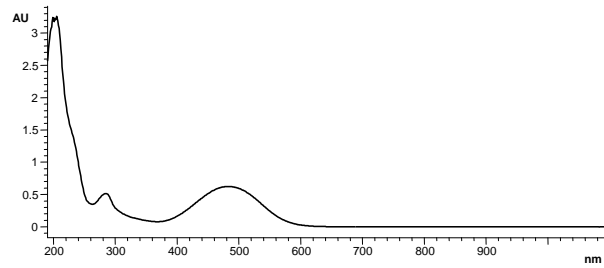
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
22,25	3,55	23,41	22,54	494	-36,77	0,414	0,294	5,52	3,92	3,88	0,291	0,465



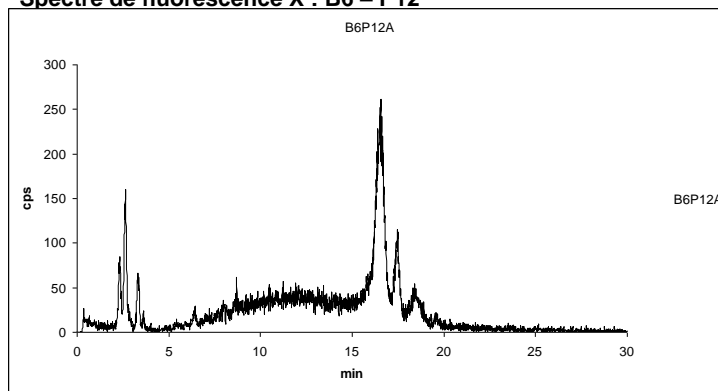
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B6 – P12



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B6 – P12



Spectre de fluorescence X : B6 – P12



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B8-P3

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Drimarene K-B

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 86

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 477

Min. dérivée (nm) : 642

Max. Spectre Uv-vis : 315 ; 407 ; 511

Éléments Spectre de fluorescence X :

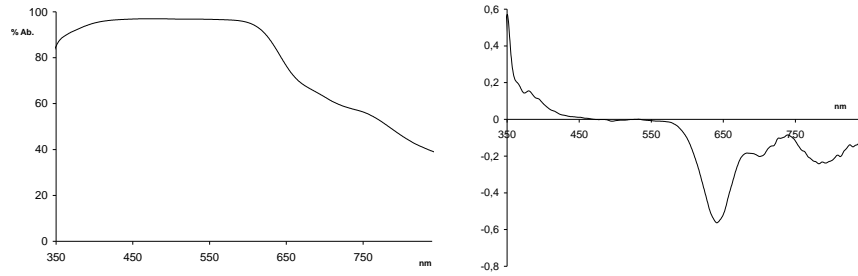
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	795	208	35	1,44	0
2	Cl	K12	2,622	16	3286	210	61	1,44	0
3	Fe	K12	6,405	16	253	167	24	1,27	0

Coordonnées colorimétriques :

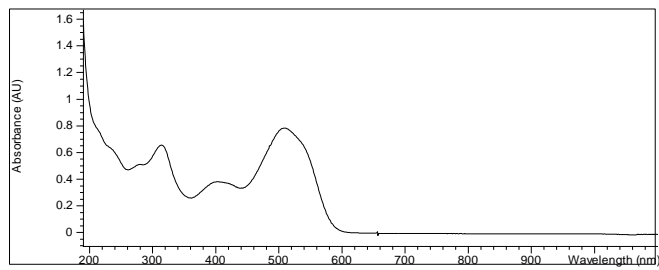
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
19,55	7,23	25,14	20,84	622	28,37	0,42	0,315	5,94	4,46	3,75	0,282	0,477



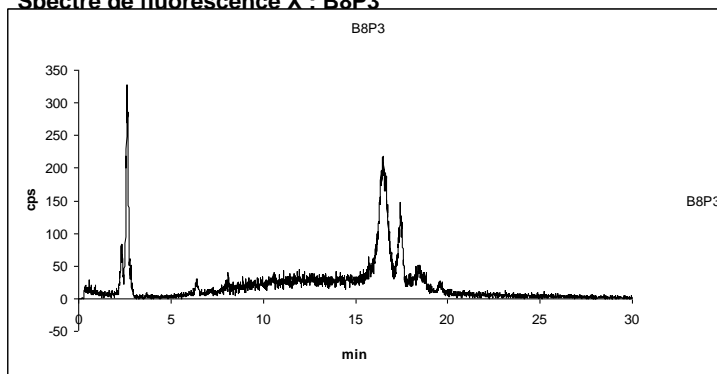
Espectro d'absorcion par reflexion difusa y derivada primera: B8-P3



Espectro Uv-vis par espectrofotometria : B8-P3



Espectro de fluorescencia X : B8P3



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B8-P4

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Drimarene K 2G

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 123

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 481

Min. dérivée (nm) : 639

Max. Spectre Uv-vis : 238 ; 302 ; 507

Eléments Spectre de fluorescence X :

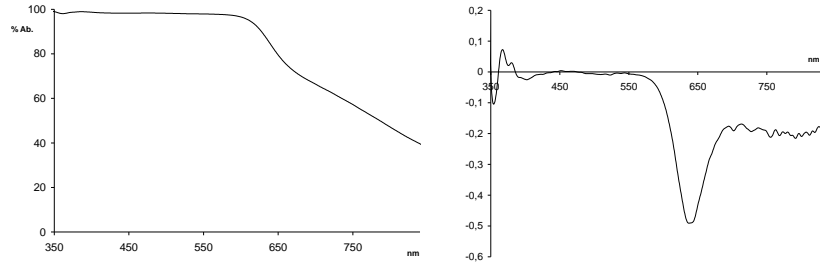
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	619	219	33	2,55	0
2	Cl	K12	2,622	16	3143	221	60	2,92	0

Coordonnées colorimétriques :

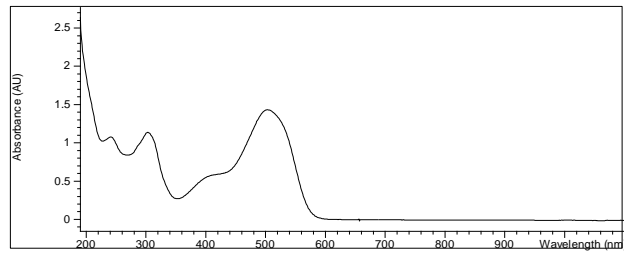
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
21,83	11,76	20,54	24,8	609	45,07	0,469	0,327	4,49	3,13	1,95	0,314	0,491



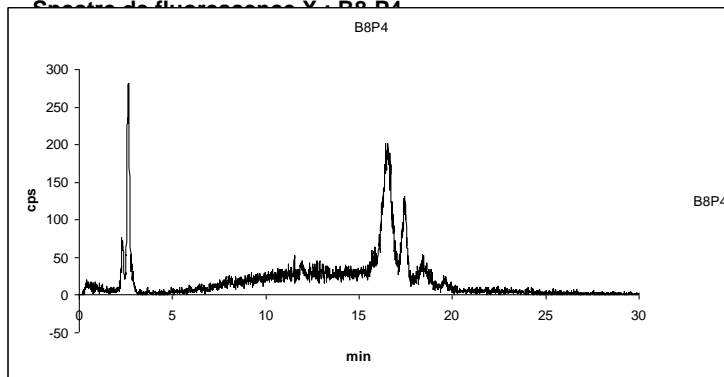
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B8-P4



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B8-P4



Spectre de fluorescence X : B8-P4



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B8-P9

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Drimarene R 4 BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 147

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : bon

Max. Spectre vis (nm) : 505 ; 553

Min. dérivée (nm) : 644

Max. Spectre Uv-vis : 216 ; 287 ; 288 ; 330 ; 517 ; 540

Éléments Spectre de fluorescence X :

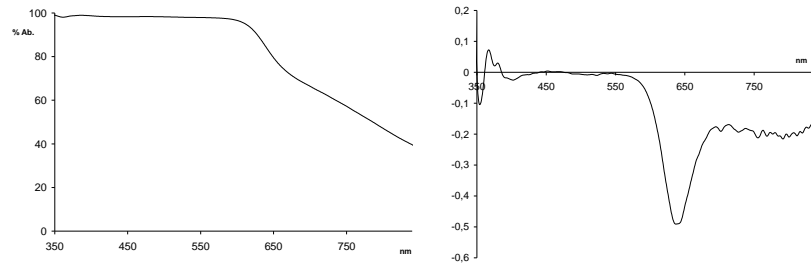
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1004	195	37	0,68	0
2	Cl	K12	2,622	16	1519	199	44	2,39	0

Coordonnées colorimétriques :

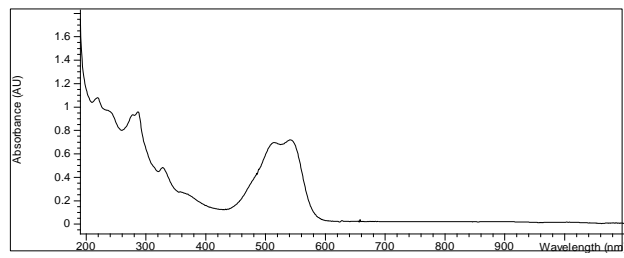
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
21,83	11,76	20,54	24,8	609	45,07	0,469	0,327	4,49	3,13	1,95	0,314	0,491



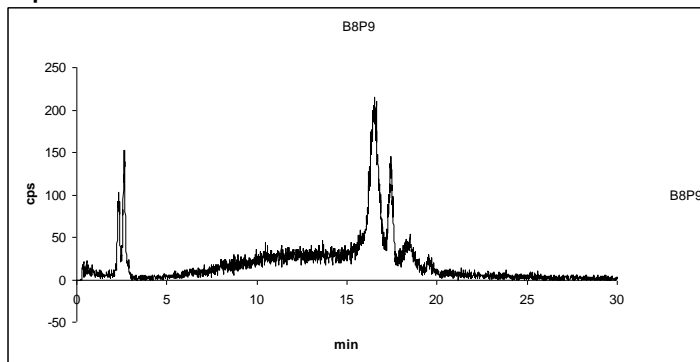
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B8-P9



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B8-P9



Spectre de fluorescence X : B8-P9



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B8-P12

Couleur : rouge

Nom : rouge brillant drimarene RBG

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif ?

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 495 ; 555

Min. dérivée (nm) : 636

Max. Spectre Uv-vis : 217 ; 285 ; 515

Eléments Spectre de fluorescence X :

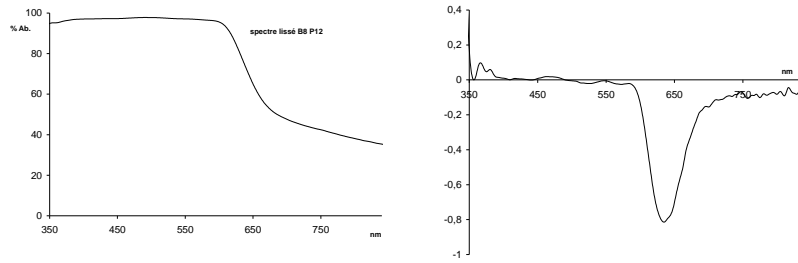
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1170	303	42	1,68	0
2	Cl	K12	2,622	16	2095	341	53	1,35	0
3	K	K12	3,314	16	6869	221	86	5,91	0
4	Br	K12	11,924	16	677	976	51	1,2	0
5	Br	L1	1,481	16	27	170	19	1,65	0

Coordonnées colorimétriques :

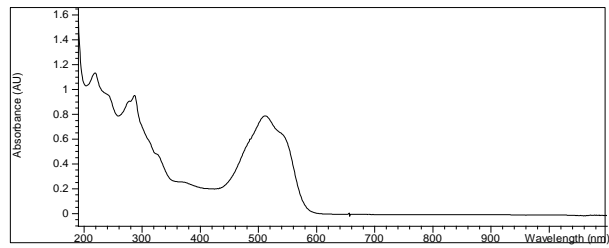
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
29,05	12,46	25,67	31,61	620	44,36	0,479	0,314	7,07	4,64	3,04	0,33	0,487



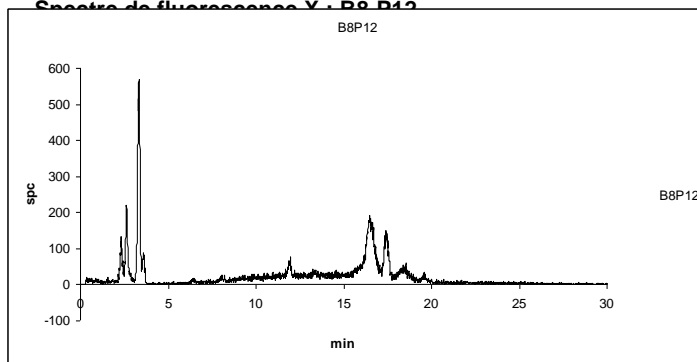
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B8-P12



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B8-P12



Spectre de fluorescence X : B8-P12



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B17-P23

Couleur : Rouge

Nom : Erio floxine 2B conc.

Fabricant : J.R. Geigy S.A. Bale

C.I. : Acide / floxine 2B

Emballage : Flacon de verre

Bouchon : Verre

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 441 ; 490

Min. dérivée (nm) : 646

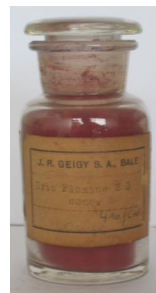
Max. Spectre Uv-vis : 239 ; 250 ; 313 ; 532

Eléments Spectre de fluorescence X :

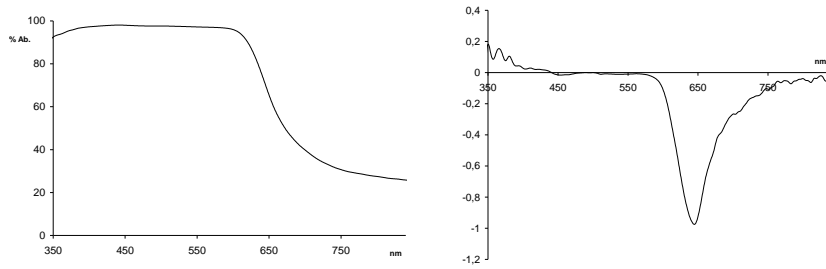
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1150	178	39	1,99	0
2	Cl	K12	2,622	16	699	175	32	1,21	0

Coordonnées colorimétriques :

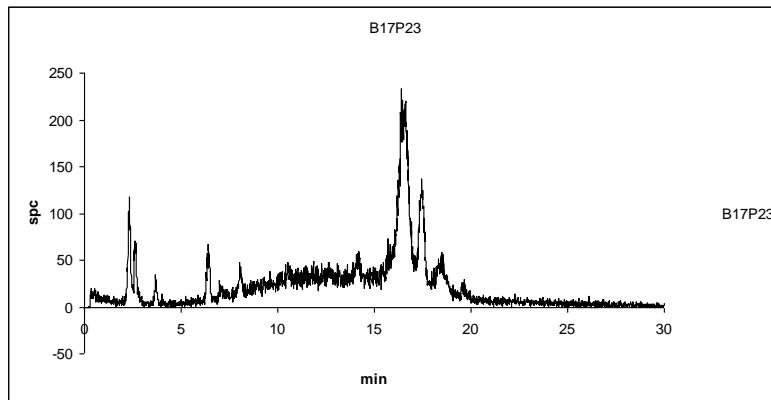
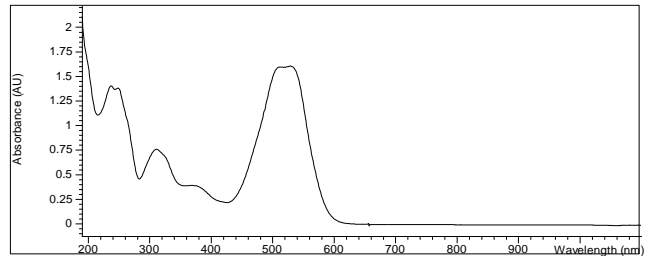
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,7	14,9	24,78	30,58	610	49,61	0,487	0,327	6,46	4,35	2,47	0,327	0,495



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B17-P23



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B17-P23



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B18-P30

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Xylene solide 3 BP

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 3 BP

Emballage : Flacon de verre

Bouchon : Verre

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 443 ; 489 ; 556 ; épaulement à 745

Min. dérivée (nm) : 644

Max. Spectre Uv-vis : 234 ; 314 ; 514 ; 536

Eléments Spectre de fluorescence X :

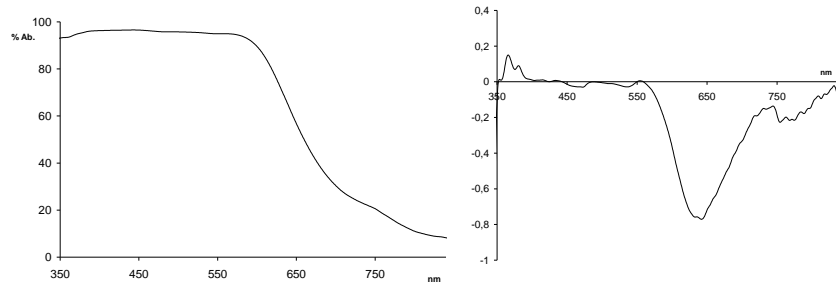
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1245	234	41	0,92	0
2	Cl	K12	2,622	16	1213	232	41	0,87	0
3	Ca	K12	3,692	16	268	73	20	1,46	0
4	Fe	K12	6,405	16	495	260	32	1,7	0
5	Pb	L1	10,551	16	1666	952	60	1,81	0
6	Pb	M1	2,342	16	11	236	22	1,18	0

Coordonnées colorimétriques :

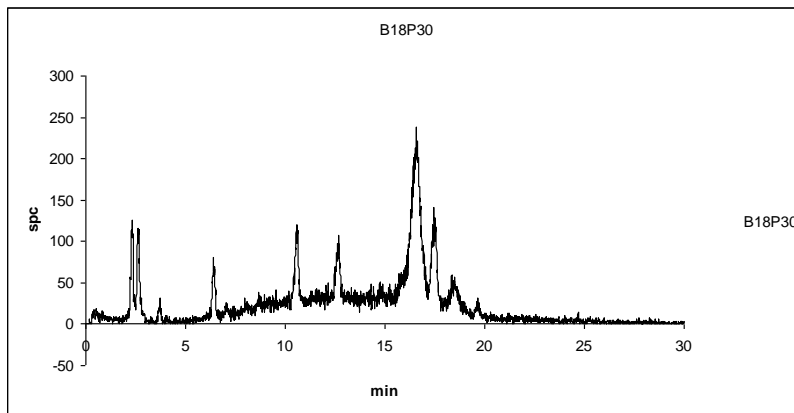
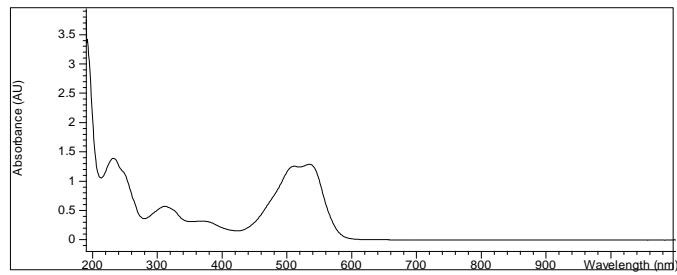
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
29,49	18,85	33,54	35	605	50,39	0,481	0,335	11,17	7,79	4,28	0,317	0,498



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B18-P30



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B18-P30



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B26-P1

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate brillant Cibalone RL

Fabricant : Ciba

C.I. : Acide rouge 253

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 489

Min. dérivée (nm) : 620

Max. Spectre Uv-vis : 237 ; 258 ; 268 ; 509

Eléments Spectre de fluorescence X :

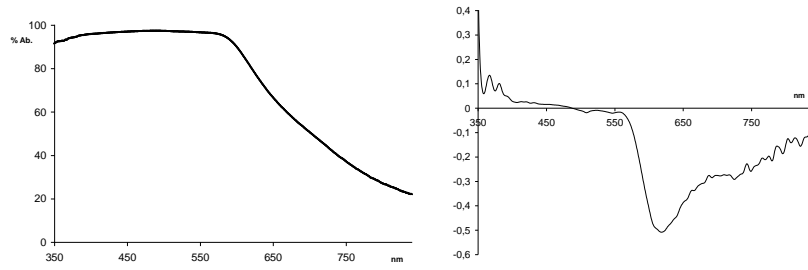
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	786	186	34	1,25	0
2	Cl	K12	2,622	16	1549	187	44	1,46	0
3	Fe	K12	6,405	16	405	324	32	1,2	0

Coordonnées colorimétriques :

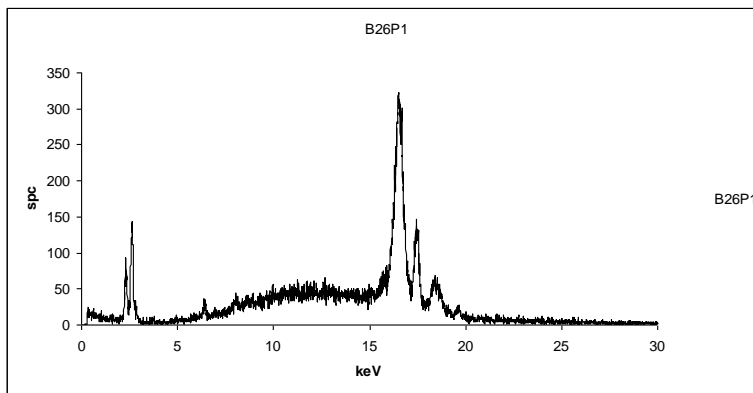
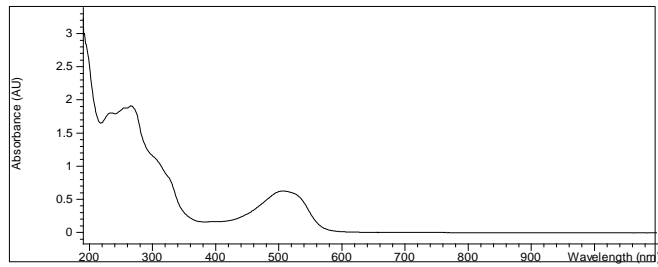
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
32,71	16,76	29,63	36,75	613	51,04	0,496	0,322	9,4	6,09	3,45	0,338	0,493



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B26-P1



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B26-P1



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B26-P16

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Erionyl RS 140%

Fabricant : Ciba-Geigy

C.I. : Acide rouge 114

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 465 ; 546 ; épaulement à 661

Min. dérivée (nm) : 626 ; 704

Max. Spectre Uv-vis : 256 ; 370 ; 520

Éléments Spectre de fluorescence X :

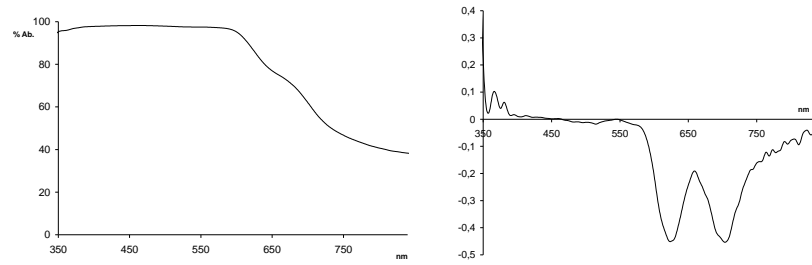
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1169	204	40	0,65	0
2	Cl	K12	2,622	16	1367	213	42	0,37	0
3	K	K12	3,314	16	527	121	28	0,99	0
4	Fe	K12	6,405	16	463	247	31	0,82	0

Coordonnées colorimétriques :

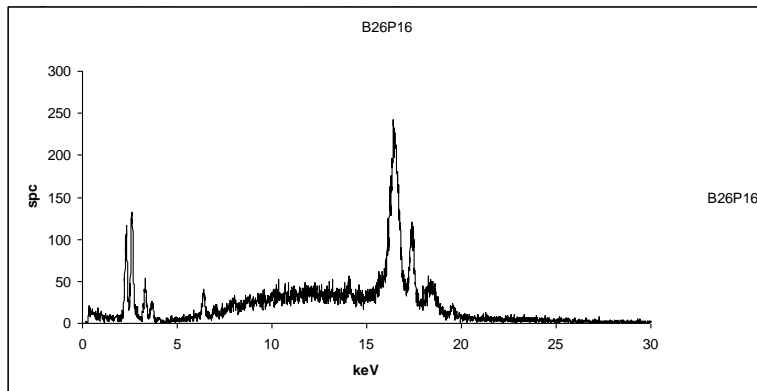
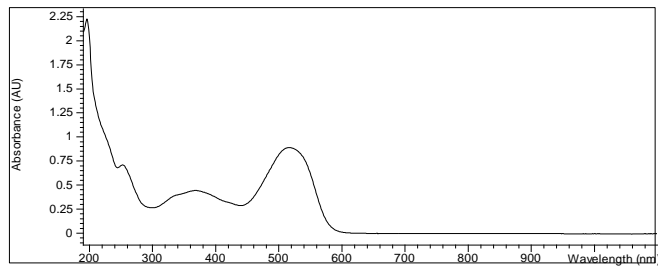
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
24,84	15,32	23,66	29,18	606	51,55	0,486	0,333	5,84	4	2,17	0,323	0,498



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B26-P16



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B26-P16



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B26-P18

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Erionyl RS 140%

Fabricant : Ciba-Geigy

C.I. : Acide rouge 114

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 546 ; épaulement à 661

Min. dérivée (nm) : 628 ; 704

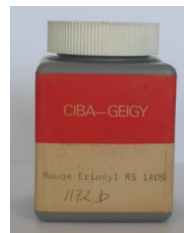
Max. Spectre Uv-vis : 256 ; 372 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

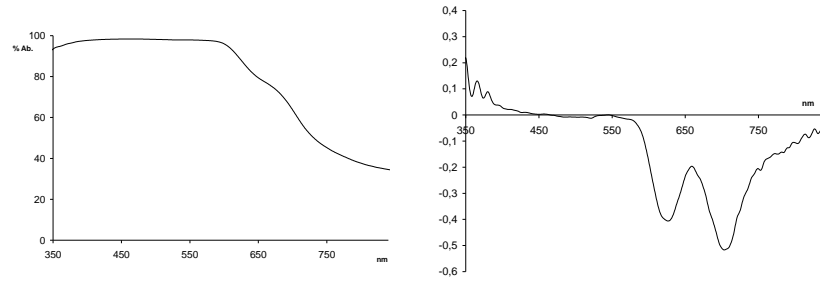
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1108	212	39	0,72	0
2	Cl	K12	2,622	16	1465	214	44	2,35	0
3	K	K12	3,314	16	484	101	26	0,94	0

Coordonnées colorimétriques :

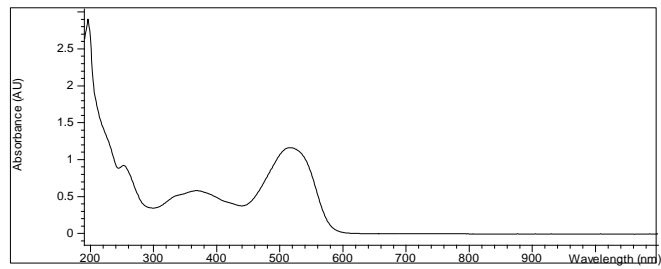
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
24,27	13,53	21,68	27,79	609	49,23	0,484	0,327	5,06	3,43	1,98	0,325	0,494



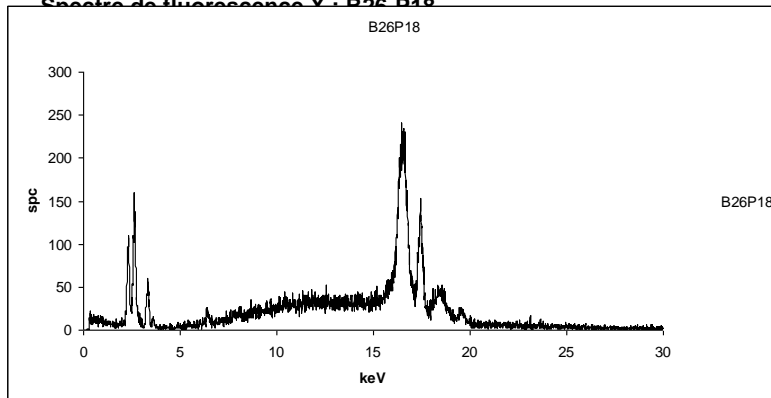
Espectro de absorción por reflexión difusa y derivada primera: B26-P18



Espectro Uv-vis par spectrophotométrie : B26-P18



Espectro de fluorescencia X : B26-P18



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B27-P24

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Xylene sol P

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 118

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 474

Min. dérivée (nm) : 644

Max. Spectre Uv-vis : 246 ; 308 ; 505

Eléments Spectre de fluorescence X :

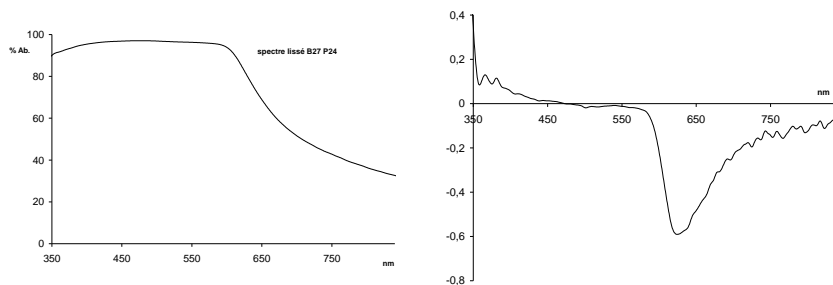
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	934	162	35	1,95	0
2	Cl	K12	2,622	16	229	168	24	1,33	0
3	Ca	K12	3,692	16	164	88	18	0,8	0
4	Fe	K12	6,405	16	1153	399	44	0,64	0

Coordonnées colorimétriques :

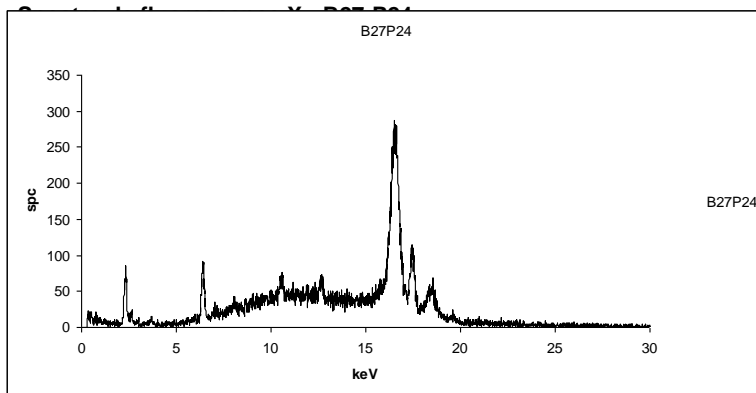
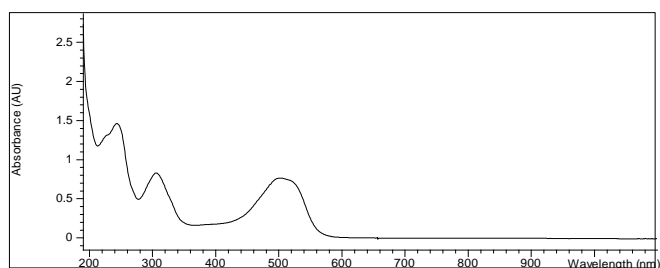
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
25,85	12,69	28,2	28,8	612	41,4	0,46	0,323	7,88	5,53	3,72	0,309	0,488



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B27-P24



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B27-P24



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B34-P4

Couleur : Rouge

Nom : Drimarene reactif rouge 2B

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 28

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 438 ; 505 ; 553

Min. dérivée (nm) : 631

Max. Spectre Uv-vis : 310 ; 383 ; 508

Eléments Spectre de fluorescence X :

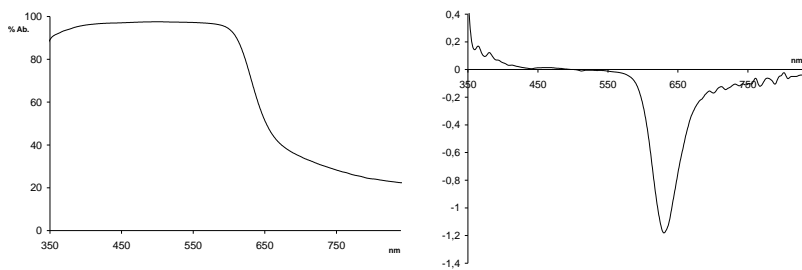
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1232	160	39	1,58	0
2	Cl	K12	2,622	16	1289	171	40	3,18	0
3	Ca	K12	3,692	16	96	63	15	1,12	0
4	Fe	K12	6,405	16	251	242	27	2,2	0
5	Cu	K12	8,046	16	206	506	35	1,93	0
6	Zn	K12	8,637	16	216	636	39	1,33	0

Coordonnées colorimétriques :

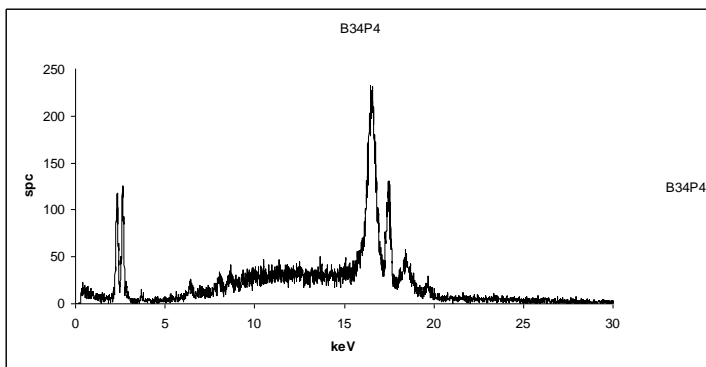
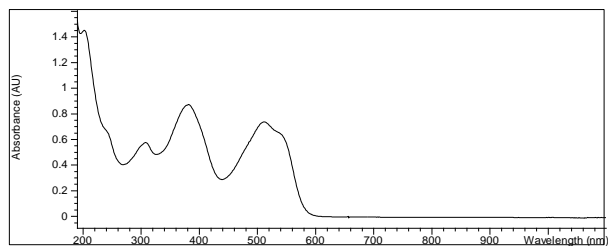
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
36,63	15,17	28,45	39,65	626	50,17	0,507	0,308	9,25	5,63	3,37	0,357	0,488



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B34-P4



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B34-P4



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B34-P5

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Drimarene F 2 GL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 99

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 448 ; 505

Min. dérivée (nm) : 612

Max. Spectre Uv-vis : 256 ; 284 ; 353 ; 469

Eléments Spectre de fluorescence X :

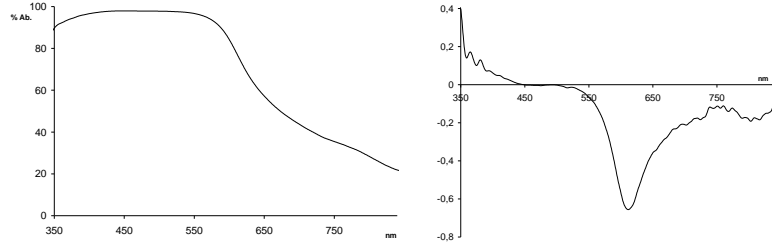
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	835	241	36	0,86	0
2	Cl	K12	2,622	16	2079	235	50	3,11	0
3	Ca	K12	3,692	16	107	52	15	1,39	0
4	Fe	K12	6,405	16	171	287	27	1,58	0

Coordonnées colorimétriques :

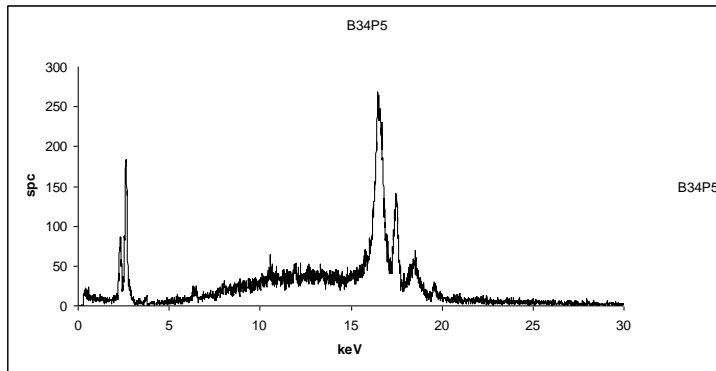
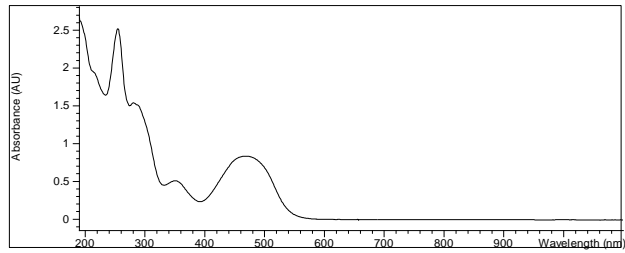
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
39,72	30,15	33,78	49,87	606	70,56	0,551	0,341	12,8	7,9	2,51	0,369	0,512



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B34-P5



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B34-P5



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P9

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Drimarene R 3G

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 118

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 434 ; 511 ; 554

Min. dérivée (nm) : 634

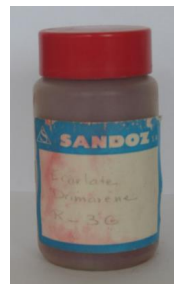
Max. Spectre Uv-vis : 229 ; 309 ; 501

Eléments Spectre de fluorescence X :

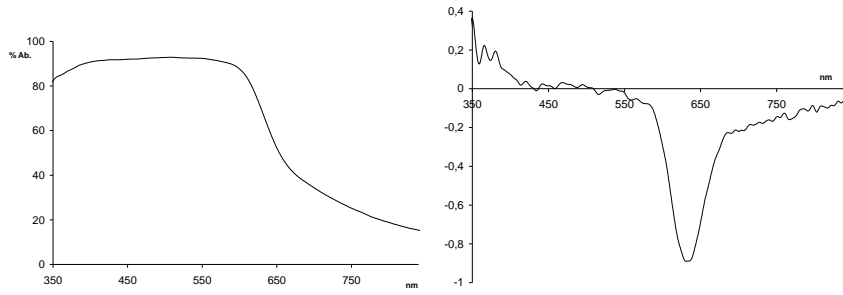
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	618	216	32	1,63	0
2	Cl	K12	2,622	16	2912	219	58	4,84	0
3	K	K12	3,314	16	184	73	18	1,52	0

Coordonnées colorimétriques :

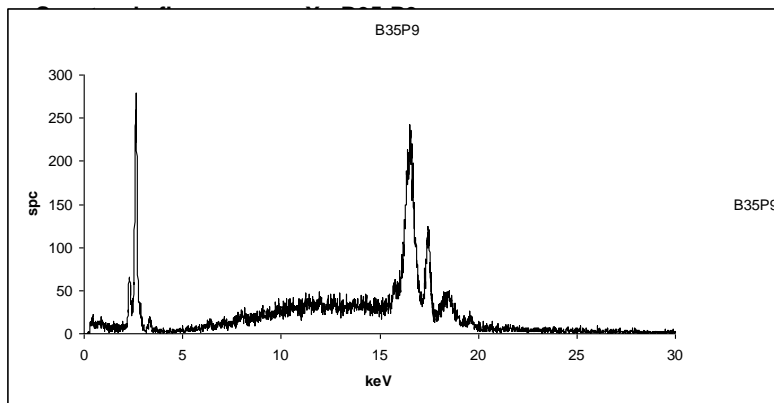
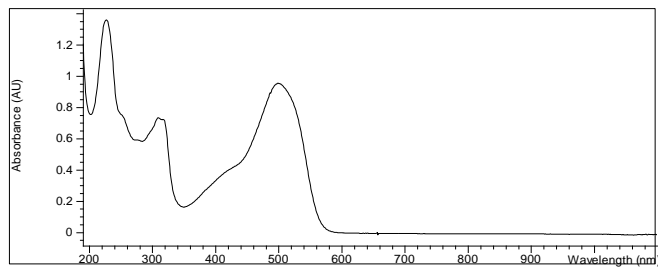
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
25,62	8,78	39,01	27,09	626	26,63	0,415	0,313	14,11	10,66	9,25	0,28	0,476



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P9



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P9



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P10

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Drimarène R 3G

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 118

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 429 ; 507 ; 552

Min. dérivée (nm) : 638

Max. Spectre Uv-vis : 229 ; 312 ; 502

Éléments Spectre de fluorescence X :

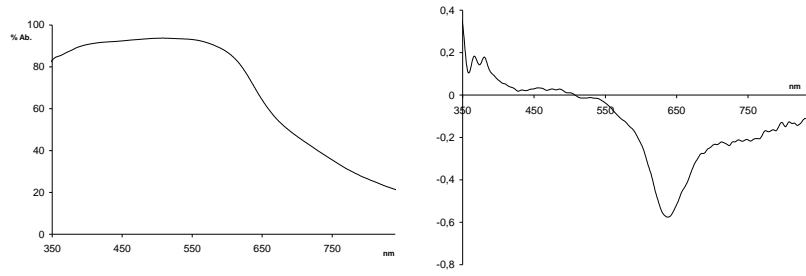
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	482	188	29	1,32	0
2	Cl	K12	2,622	16	3379	200	61	4,42	0
3	K	K12	3,314	16	134	93	18	1,03	0

Coordonnées colorimétriques :

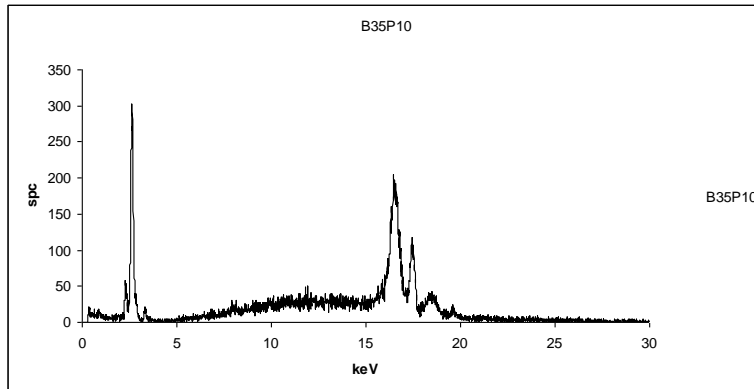
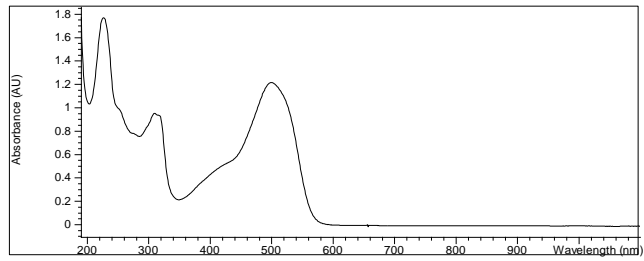
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
23,65	7,39	37,18	24,78	633	24,08	0,407	0,312	12,59	9,64	8,7	0,275	0,473



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P10



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P10



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P11

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Drimarene K BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 124

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 508 ; 558

Min. dérivée (nm) : 651

Max. Spectre Uv-vis : 317 ; 517 ; 540

Eléments Spectre de fluorescence X :

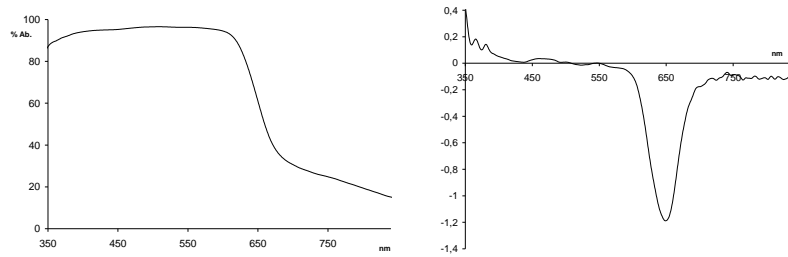
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1094	190	38	0,96	0
2	Cl	K12	2,622	16	1688	189	45	2,35	0
3	Fe	K12	6,405	16	131	289	27	1,45	0
4	Br	K12	11,924	16	571	1244	55	3,56	0
5	Br	L1	1,481	16	26	133	17	2,03	0

Coordonnées colorimétriques :

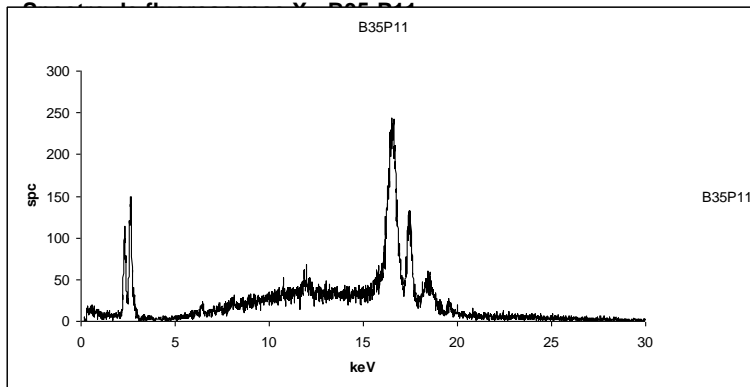
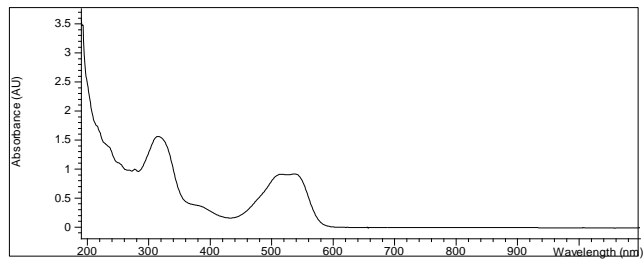
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
27,17	5,32	28,49	27,68	493	-42,15	0,428	0,296	8,17	5,64	5,28	0,301	0,467



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P11



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P11



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P12

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Drimarene K 4 BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 147

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 512 ; 555

Min. dérivée (nm) : 646

Max. Spectre Uv-vis : 228 ; 280 ; 288 ; 330 ; 518 ; 544

Éléments Spectre de fluorescence X :

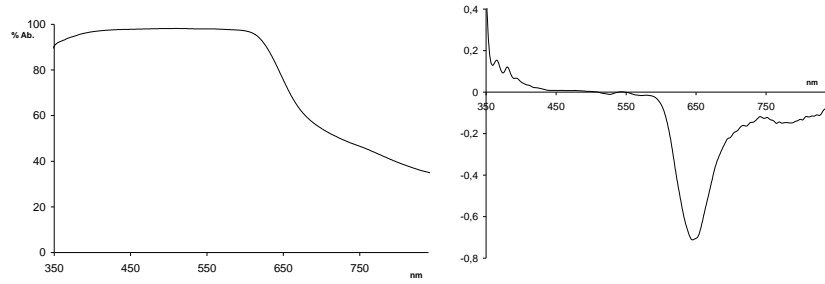
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	945	181	36	1,72	0
2	Cl	K12	2,622	16	1918	183	48	3,27	0

Coordonnées colorimétriques :

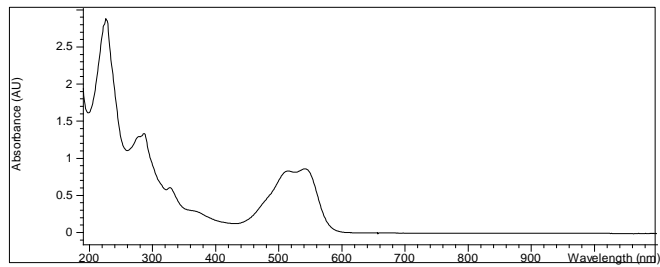
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
24,11	7,34	20,64	25,2	649	34,26	0,453	0,304	4,7	3,15	2,53	0,315	0,476



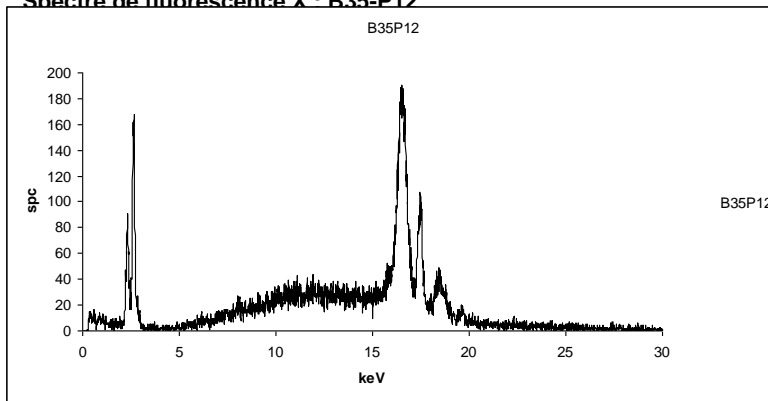
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P12



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P12



Spectre de fluorescence X · B35-P12



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P13

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Drimarene R 4 BL et K BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 147

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 486 ; 553

Min. dérivée (nm) : 646

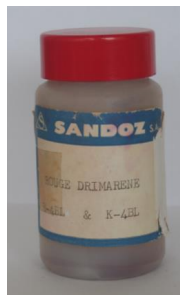
Max. Spectre Uv-vis : 229 ; 279 ; 289 ; 330 ; 519 ; 544

Eléments Spectre de fluorescence X :

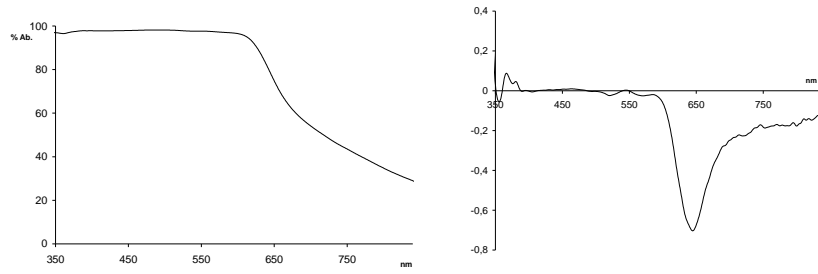
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	726	176	33	2,81	0
2	Cl	K12	2,622	16	2572	186	54	5,71	0

Coordonnées colorimétriques :

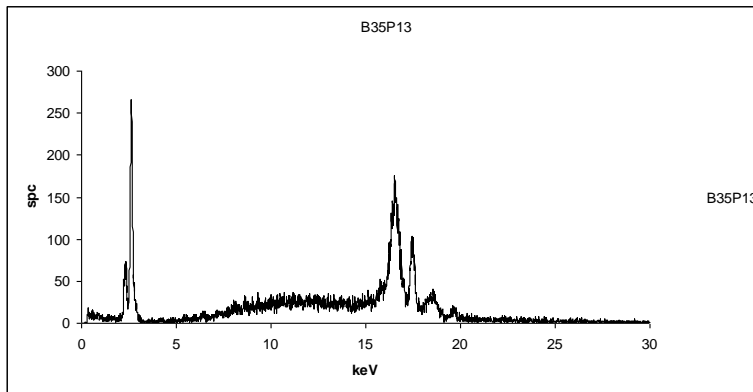
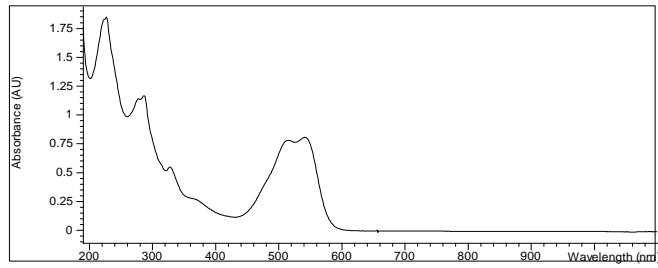
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
23,4	10,87	22,04	25,8	615	41,65	0,464	0,32	5,12	3,53	2,38	0,314	0,487



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P13



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P13



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P15

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Drimarene R 2 GL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Réactif rouge 119

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 491 ; 551

Min. dérivée (nm) : 634

Max. Spectre Uv-vis : 284 ; 375 ; 513

Eléments Spectre de fluorescence X :

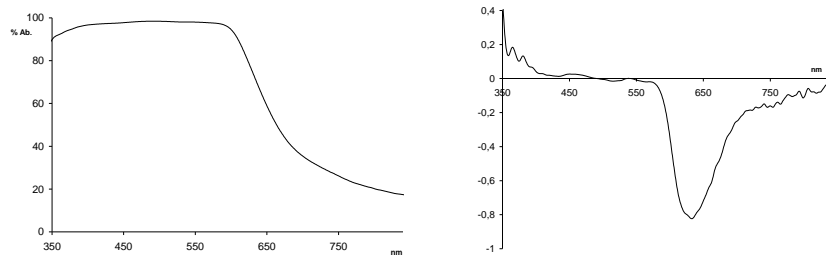
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1088	202	39	1,24	0
2	Cl	K12	2,622	16	1809	214	47	1,97	0
3	Ca	K12	3,692	16	580	79	27	1,27	0

Coordonnées colorimétriques :

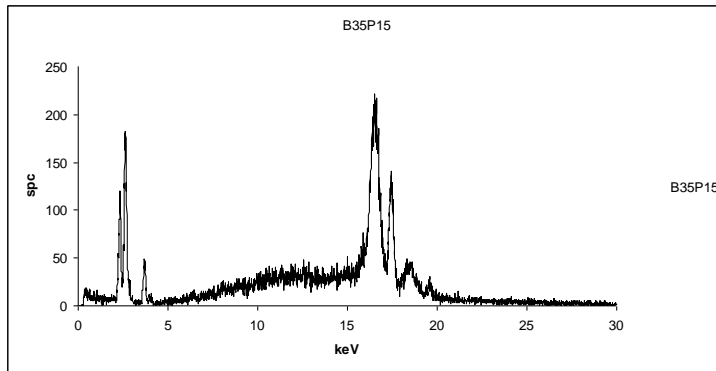
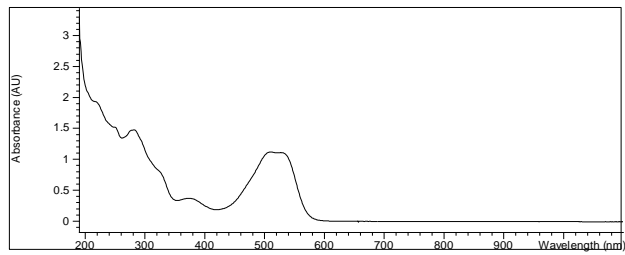
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
38,51	16,3	25,86	41,82	629	55,54	0,53	0,305	8,17	4,7	2,53	0,379	0,49



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B35-P15



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P15



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P26

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Nylosane E BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 57

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 514

Min. dérivée (nm) : 653

Max. Spectre Uv-vis : 248 ; 308 ; 526

Éléments Spectre de fluorescence X :

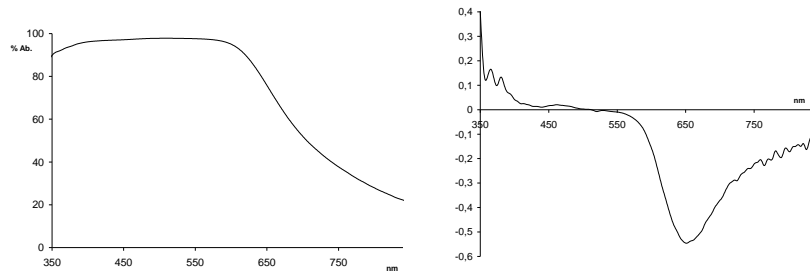
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1476	145	42	1,34	0
2	Cl	K12	2,622	16	190	138	22	1,04	0
3	Fe	K12	6,405	16	534	236	32	6,27	0

Coordonnées colorimétriques :

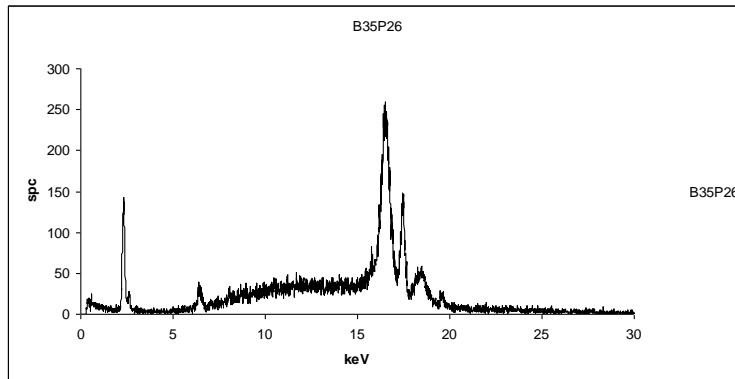
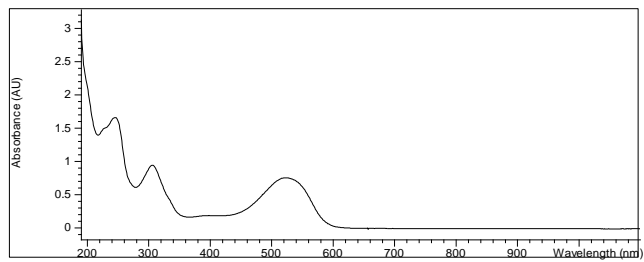
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,15	7,46	23,59	27,2	677	33,13	0,45	0,302	5,93	3,98	3,26	0,315	0,475



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P26



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P26



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P27

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Nylosane E BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 57

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 508

Min. dérivée (nm) : 647

Max. Spectre Uv-vis : 249 ; 309 ; 526

Eléments Spectre de fluorescence X :

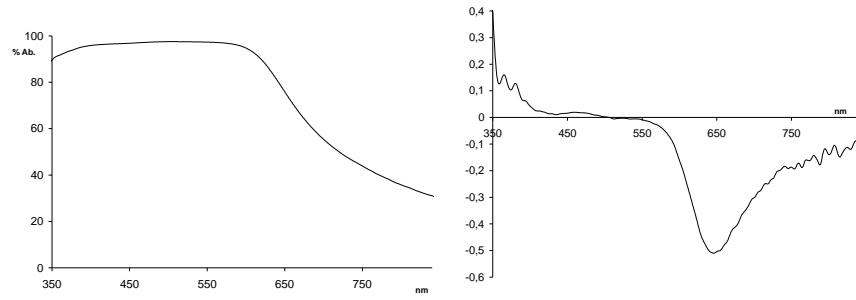
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1603	147	44	1,65	0
2	Cl	K12	2,622	16	188	146	22	3,21	0
3	Fe	K12	6,405	16	320	283	30	3,67	0

Coordonnées colorimétriques :

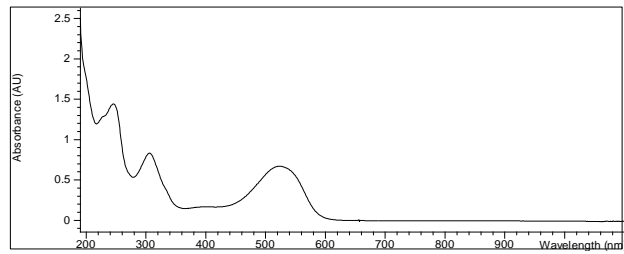
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
24,85	6,93	24,5	25,8	678	30,57	0,44	0,303	6,17	4,25	3,61	0,305	0,474



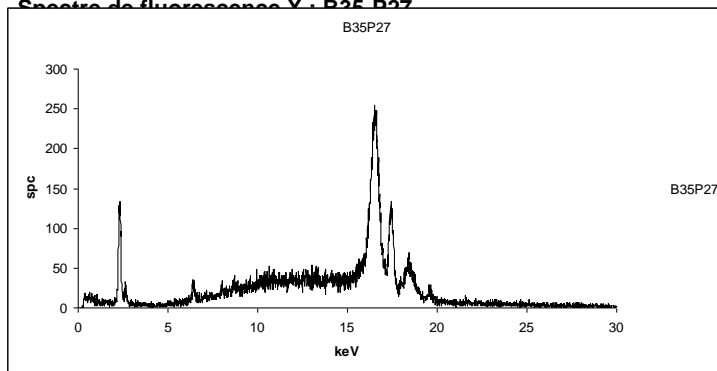
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P27



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P27



Spectre de fluorescence X : B35-P27



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B35-P28

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Nylosane F RS 140%

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 114

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 467 ; 547 ; épaulement à 659

Min. dérivée (nm) : 621 ; 700

Max. Spectre Uv-vis : 256 ; 370 ; 517

Eléments Spectre de fluorescence X :

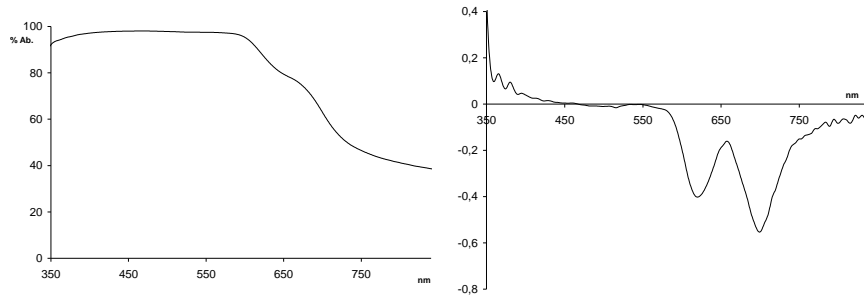
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1247	208	41	1,82	0
2	Cl	K12	2,622	16	1510	219	44	1,08	0
3	K	K12	3,314	16	617	132	30	0,73	0
4	Fe	K12	6,405	16	219	263	27	1,23	0
5	Cu	K12	8,046	16	203	526	35	2,01	0

Coordonnées colorimétriques :

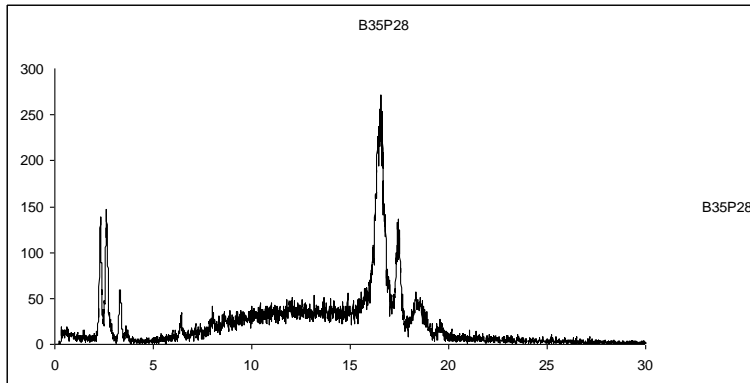
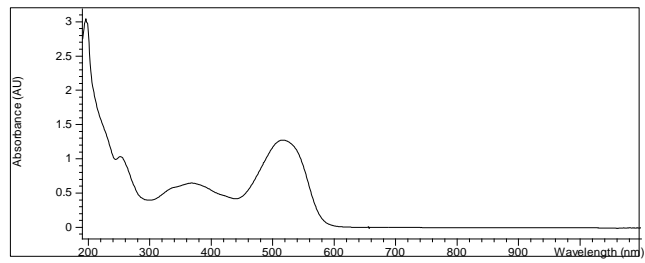
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
23,45	12,98	23,29	26,81	609	45,56	0,471	0,328	5,58	3,89	2,38	0,314	0,492



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B35-P28



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B35-P28



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B39-P22

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Nylosane F RS 140%

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 114

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 474 ; 555 ; épaulement à 663

Min. dérivée (nm) : 622 ; 703

Max. Spectre Uv-vis : 255 ; 371 ; 519

Éléments Spectre de fluorescence X :

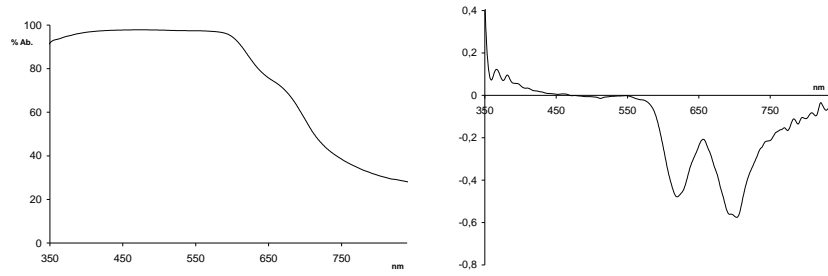
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1040	196	38	1,81	0
2	Cl	K12	2,622	16	1550	211	44	3,04	0
3	K	K12	3,314	16	1537	130	42	2,68	0

Coordonnées colorimétriques :

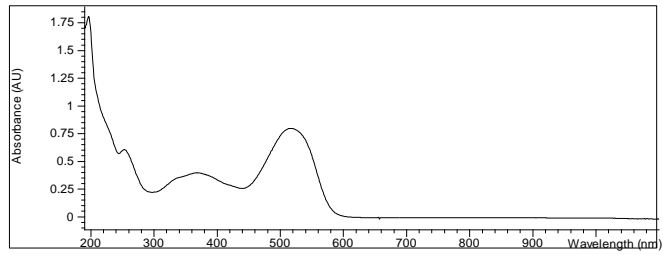
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,41	13,11	24,65	29,48	613	45,78	0,477	0,322	6,38	4,3	2,69	0,323	0,49



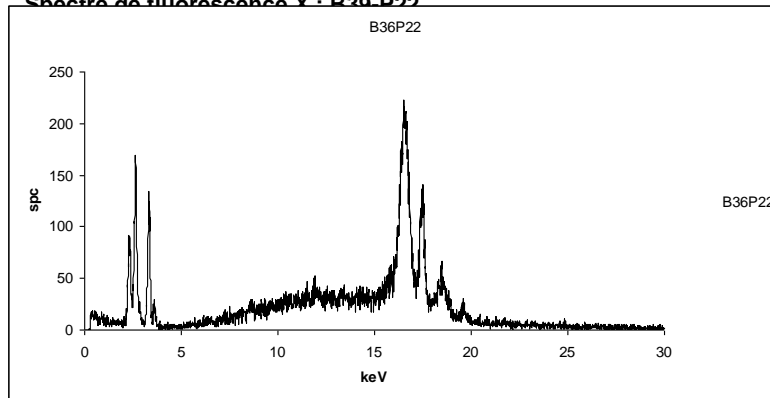
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B39-P22



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B39-P22



Spectre de fluorescence X : B39-P22



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B39-P27

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Nylosane E-BL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 57

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 518

Min. dérivée (nm) : 651

Max. Spectre Uv-vis : 249 ; 310 ; 527

Eléments Spectre de fluorescence X :

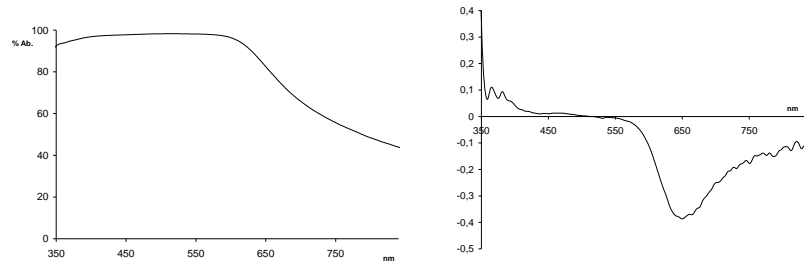
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc. %
1	S	K12	2,309	16	1495	132	42	1,11	0
2	Cl	K12	2,622	16	148	136	21	1,61	0
3	Fe	K12	6,405	16	377	223	29	2,26	0

Coordonnées colorimétriques :

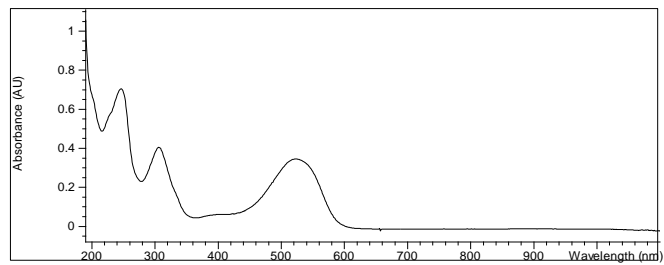
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
22,65	5,89	20,02	23,4	493	-46,59	0,44	0,301	4,38	2,99	2,58	0,307	0,472



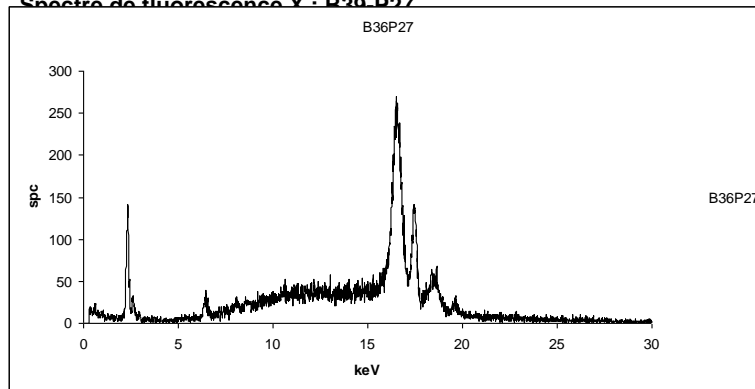
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B39-P27



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B39-P27



Spectre de fluorescence X : B39-P27



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B39-P31

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Tectilon 2B KWL

Fabricant : Ciba-Geigy

C.I. : Acide rouge 361

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 528

Min. dérivée (nm) : 647

Max. Spectre Uv-vis : 229 ; 243 ; 309 ; 523

Éléments Spectre de fluorescence X :

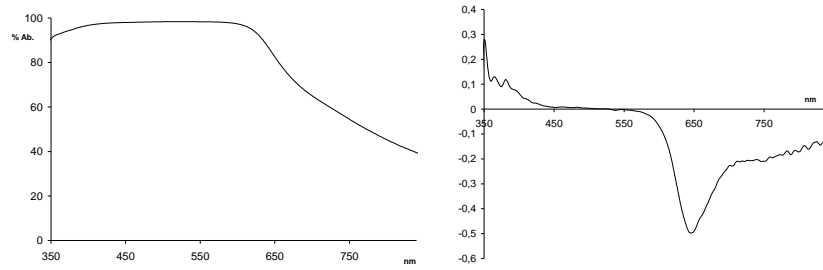
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	873	113	33	1,27	0
2	Ca	K12	3,692	16	135	65	16	1,71	0
3	Fe	K12	6,405	16	600	318	35	1,12	0
4	Pb	L1	10,551	16	673	1186	55	1,71	0
5	Pb	M1	2,342	16	66	113	17	1,33	0

Coordonnées colorimétriques :

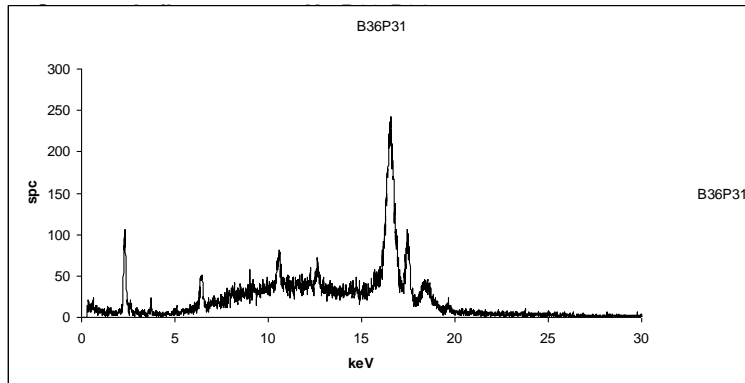
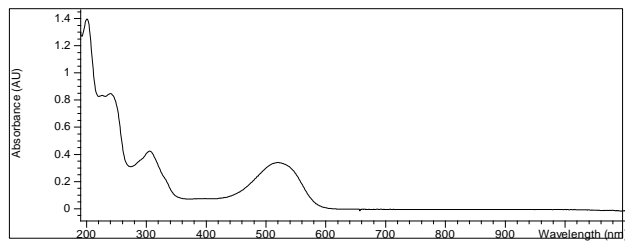
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
21,02	4,67	18,32	21,53	493	-43,56	0,432	0,298	3,75	2,59	2,35	0,302	0,469



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B39-P31



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B39-P31



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B39-P32

Couleur : Rouge

Nom : Lanazol rouge G

Fabricant : Ciba-Geigy

C.I. : Réactif rouge 83

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 501 ; épaulement à 698

Min. dérivée (nm) : 643 ; 761

Max. Spectre Uv-vis : 222 ; 296 ; 519 ; 537

Eléments Spectre de fluorescence X :

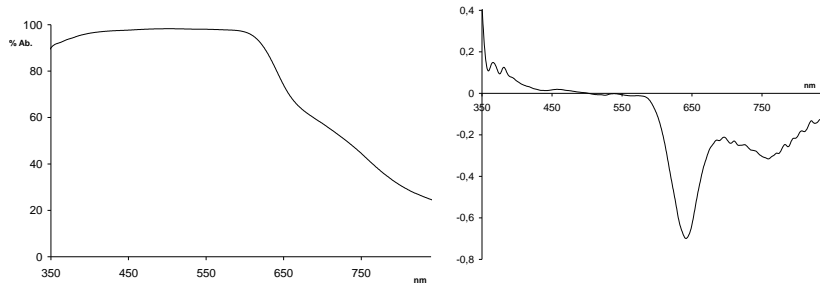
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	627	775	47	0,72	0
2	Cl	K12	2,622	16	1361	782	54	2,32	0
3	Br	K12	11,924	16	498591	4719	713	351,43	0
4	Br	L1	1,481	16	59	831	41	1,1	0

Coordonnées colorimétriques :

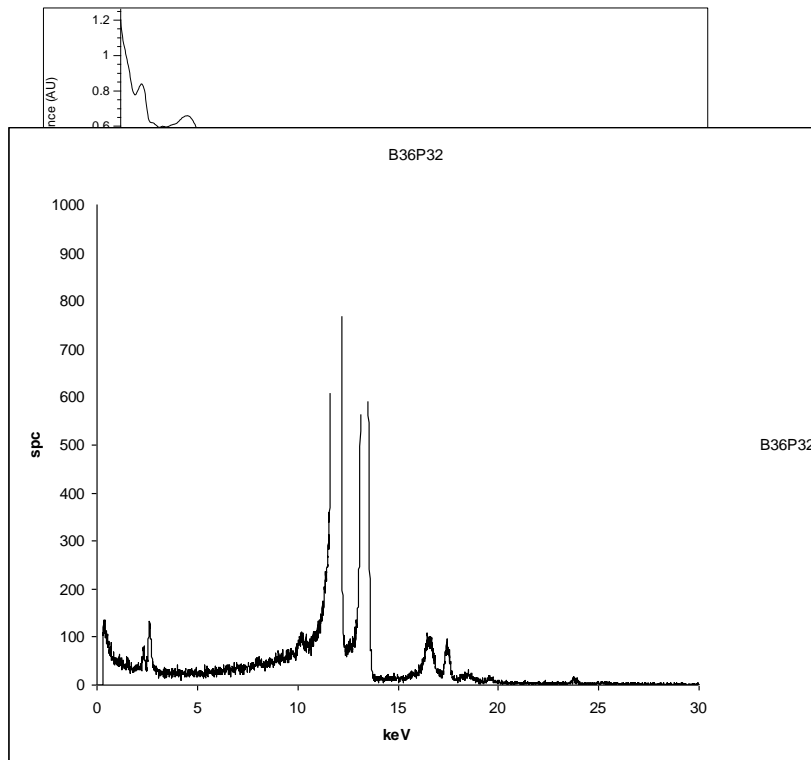
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,54	7,14	21,13	27,48	493	-53,44	0,459	0,298	5,06	3,28	2,67	0,325	0,474



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B39-P32



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B39-P32



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P7

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Leonyl G

Fabricant : Ciba

C.I. : Acide rouge 85

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 536 ; épaulement à 660

Min. dérivée (nm) : 606 ; 703

Max. Spectre Uv-vis : 253 ; 363 ; 510

Éléments Spectre de fluorescence X :

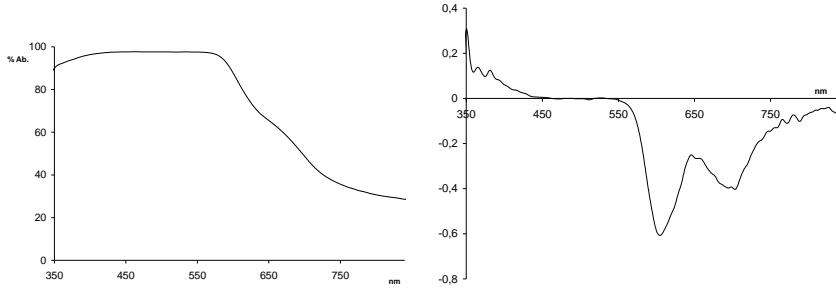
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1104	197	39	1,26	0
2	Cl	K12	2,622	16	1698	210	46	5,17	0
3	K	K12	3,314	16	396	94	24	1,67	0
4	Zn	K12	8,637	16	842	565	44	2,02	0

Coordonnées colorimétriques :

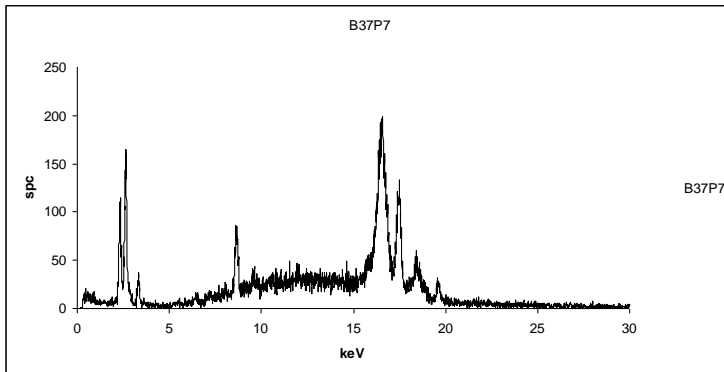
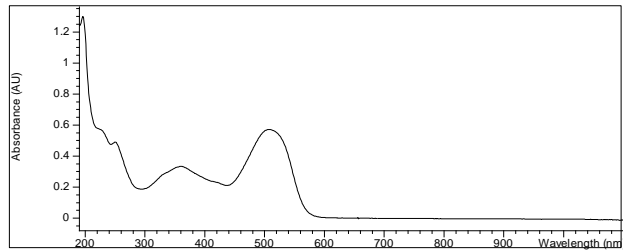
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
37,54	21,14	29,89	43,08	613	60,08	0,529	0,323	10,15	6,19	2,83	0,364	0,5



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P7



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P7



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P8

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Cibacrone

Fabricant : Ciba

C.I. : Réactif rouge 15

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 484 ; 537

Min. dérivée (nm) : 640

Max. Spectre Uv-vis : 240 ; 295 ; 332 ; 277 ; 513

Éléments Spectre de fluorescence X :

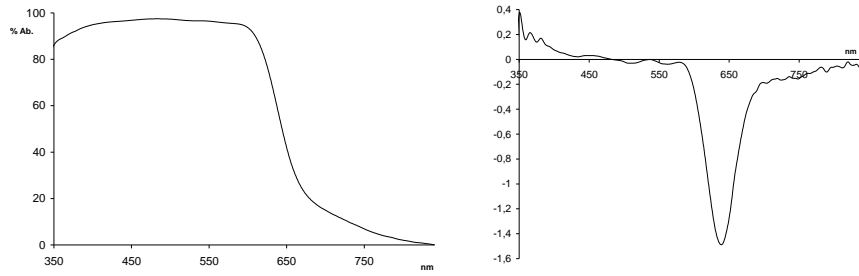
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1145	231	40	2,76	0
2	Cl	K12	2,622	16	1785	226	47	3,44	0

Coordonnées colorimétriques :

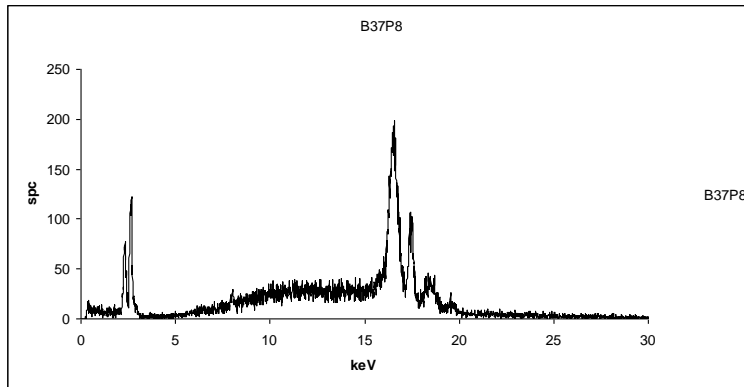
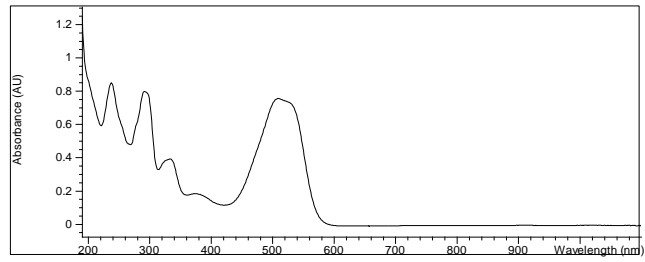
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
36,9	17,21	30,81	40,71	619	51,87	0,507	0,315	10,58	6,57	3,72	0,352	0,492



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B40-P8



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P8



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P9

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Cibacrone B-D

Fabricant : Ciba

C.I. : Réactif rouge 24

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 488

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 243 ; 289 ; 372 ; 519 ; 539

Eléments Spectre de fluorescence X :

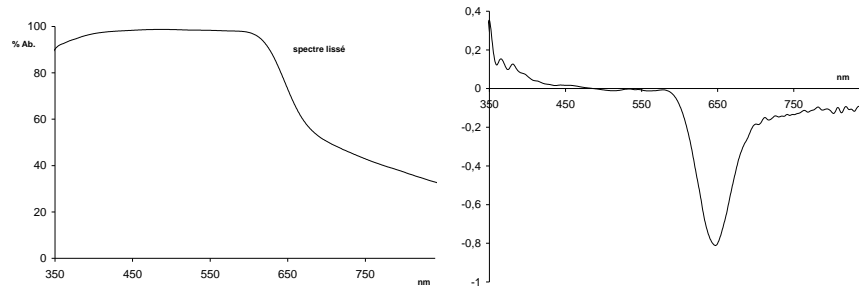
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1125	219	40	2,52	0
2	Cl	K12	2,622	16	1925	209	48	3,39	0

Coordonnées colorimétriques :

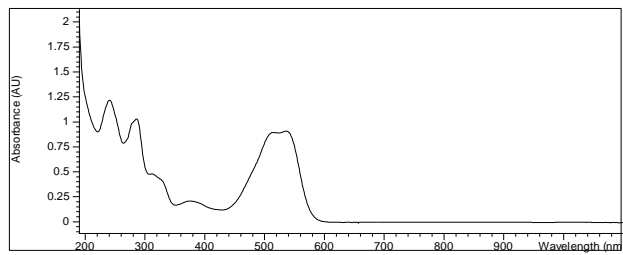
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
28,07	10,54	19,77	29,99	632	45,28	0,492	0,306	4,71	2,93	1,94	0,346	0,484



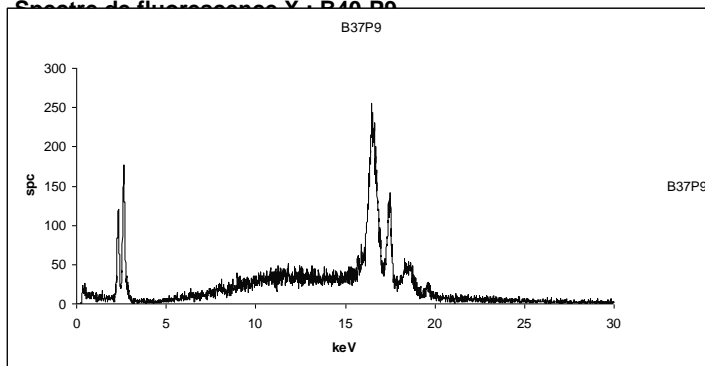
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P9



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P9



Spectre de fluorescence X : B40-P9



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P10

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Tectilon 3B

Fabricant : ciba

C.I. : Acide rouge 57

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 520

Min. dérivée (nm) : 632

Max. Spectre Uv-vis : 249 ; 309 ; 526

Eléments Spectre de fluorescence X :

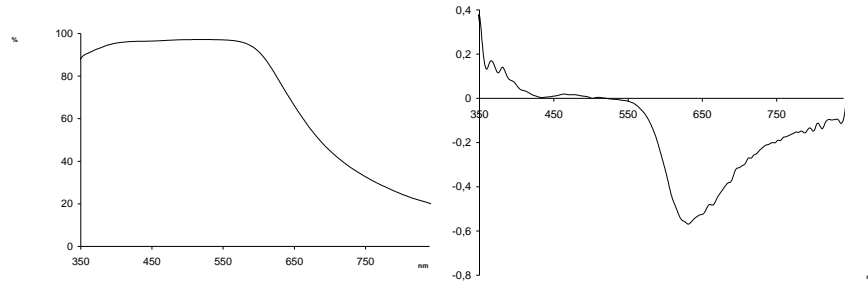
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1489	133	42	0,94	0
2	Cl	K12	2,622	16	179	129	21	0,97	0
3	Ca	K12	3,692	16	101	61	15	1,83	0
4	Fe	K12	6,405	16	868	257	37	1,22	0
5	Zn	K12	8,637	16	537	672	43	0,92	0

Coordonnées colorimétriques :

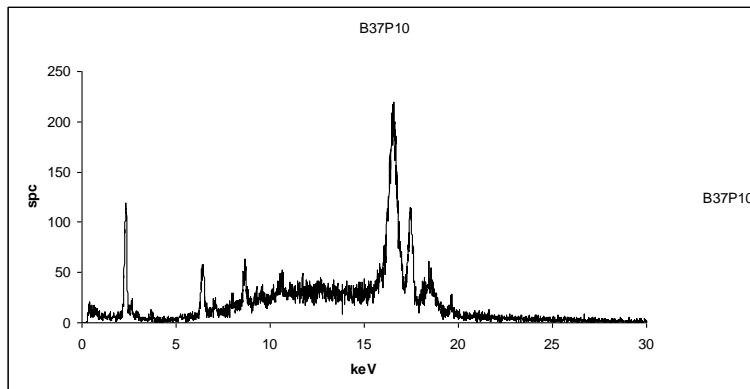
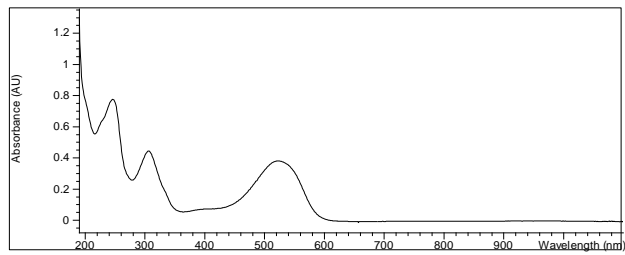
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
32,06	12,13	28,81	34,28	628	42,02	0,476	0,309	8,89	5,76	4,01	0,331	0,483



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B40-P10



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P10



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P11

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Lanazol 2G

Fabricant : Ciba

Pays du fabricant :

C.I. : Réactif rouge 78

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 468 ; 535 ; épaulement à 657

Min. dérivée (nm) : 609 ; 718

Max. Spectre Uv-vis : 227 ; 270 ; 369 ; 504

Eléments Spectre de fluorescence X :

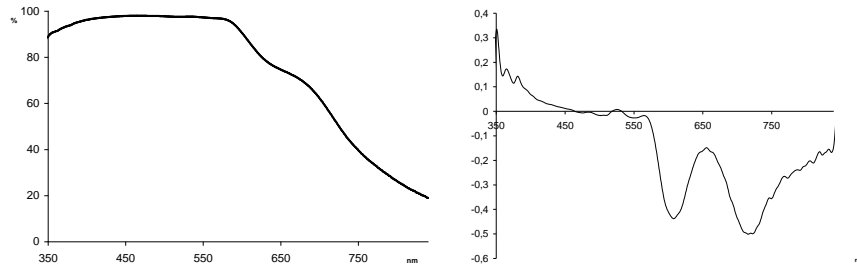
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	606	577	42	0,59	0
2	Cl	K12	2,622	16	1049	560	47	1,54	0
3	Fe	K12	6,405	16	207	636	38	2,2	0
4	Br	K12	11,924	16	307443	3175	560	74,21	0
5	Br	L1	1,481	16	12	596	35	1,74	0

Coordonnées colorimétriques :

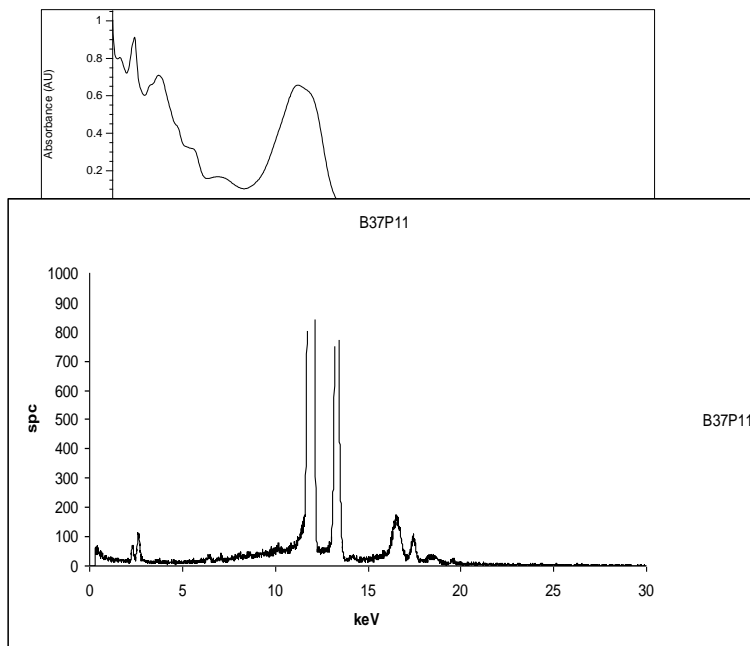
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
30,77	18,31	27,23	35,81	609	55,73	0,507	0,329	7,96	5,17	2,58	0,341	0,499



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B40-P11



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P11



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P12

Couleur : Rouge

Nom : Rouge Lanazol G

Fabricant : Ciba

C.I. : Réactif rouge 83

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 506 ; épaulement à 696

Min. dérivée (nm) : 641 ; 540

Max. Spectre Uv-vis : 226 ; 296 ; 519 ; 539

Eléments Spectre de fluorescence X :

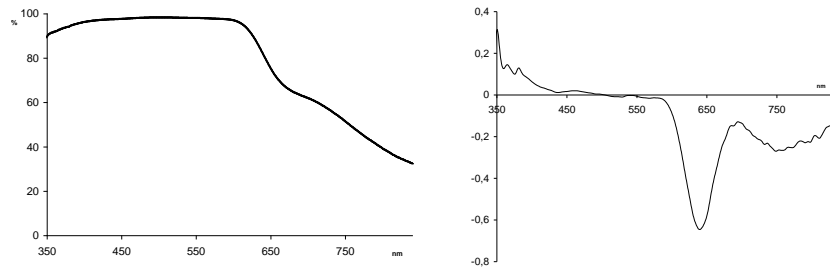
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	557	743	45	0,89	0
2	Cl	K12	2,622	16	1623	764	56	3,17	0
3	Br	K12	11,924	16	454147	4070	680	107,89	0
4	Br	L1	1,481	16	18	746	39	0,37	0

Coordonnées colorimétriques :

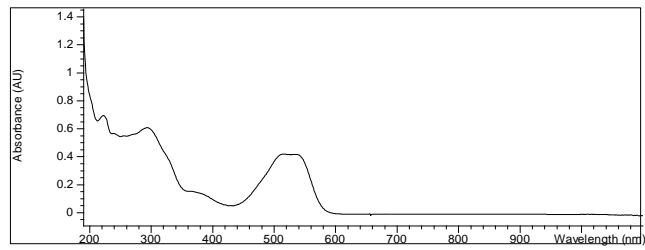
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,12	6,57	20,51	26,93	493	-52,51	0,457	0,296	4,81	3,12	2,6	0,324	0,473



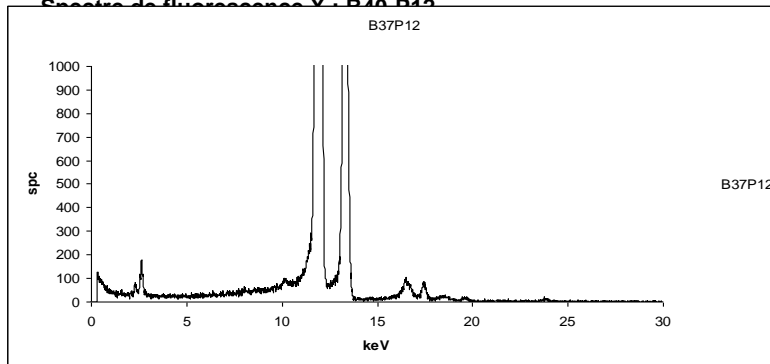
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P12



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P12



Spectre de fluorescence X : B40-P12



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P17

Couleur : Rouge

Nom : Rouge brillant Cibacrone 2B-E

Fabricant : Ciba

C.I. : Réactif rouge 42

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 502 ; épaulement à 713

Min. dérivée (nm) : 639 ; 718

Max. Spectre Uv-vis : 241 ; 288 ; 531

Eléments Spectre de fluorescence X :

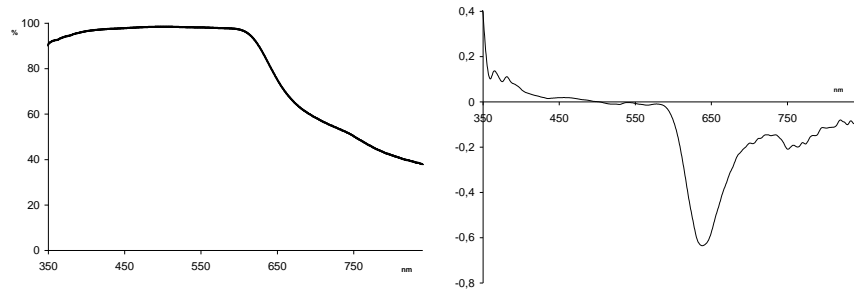
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	703	179	33	1,28	0
2	Cl	K12	2,622	16	3432	197	62	2,06	0
3	Cu	K12	8,046	16	185	419	32	1,78	0
4	Br	K12	11,924	16	1335	1015	58	1,34	0
5	Br	L1	1,481	16	14	136	17	1,46	0

Coordonnées colorimétriques :

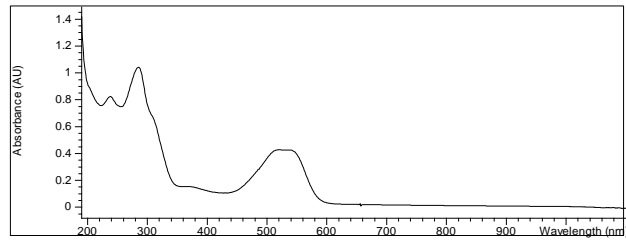
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
26,41	7,08	20,43	27,34	493	-54,15	0,461	0,297	4,8	3,1	2,51	0,327	0,474



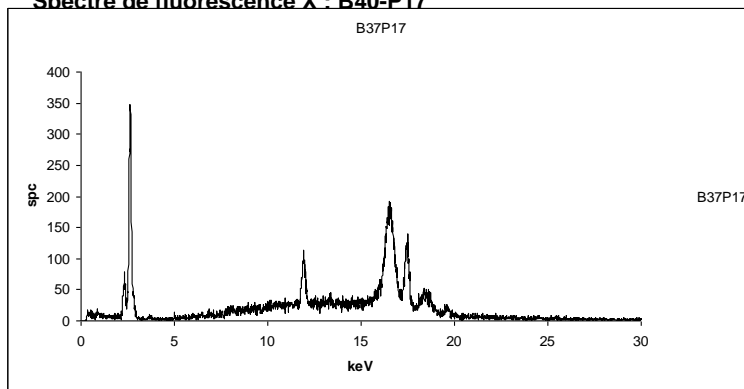
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P17



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P17



Spectre de fluorescence X : B40-P17



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P18

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Cibacrone 2G-E

Fabricant : Ciba

C.I. : Réactif rouge 43

Emballage : Pot de plastique

Bouchon : Plastique

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 474

Min. dérivée (nm) : 627

Max. Spectre Uv-vis : 247 ; 284 ; 415 ; 506

Eléments Spectre de fluorescence X :

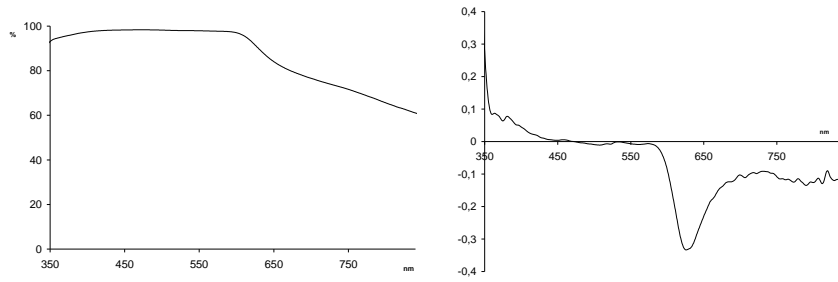
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1036	198	38	1,42	0
2	Cl	K12	2,622	16	1687	213	46	1,81	0
3	Fe	K12	6,405	16	136	270	26	0,55	0

Coordonnées colorimétriques :

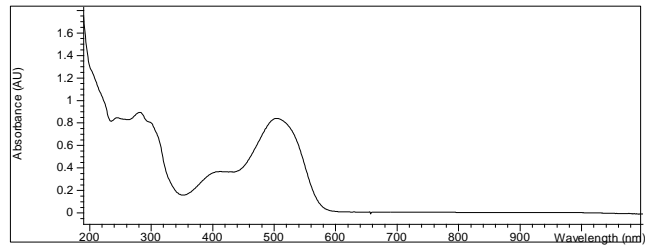
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
18,84	9,53	19,7	21,11	610	38,47	0,447	0,325	4,01	2,92	2,04	0,298	0,487



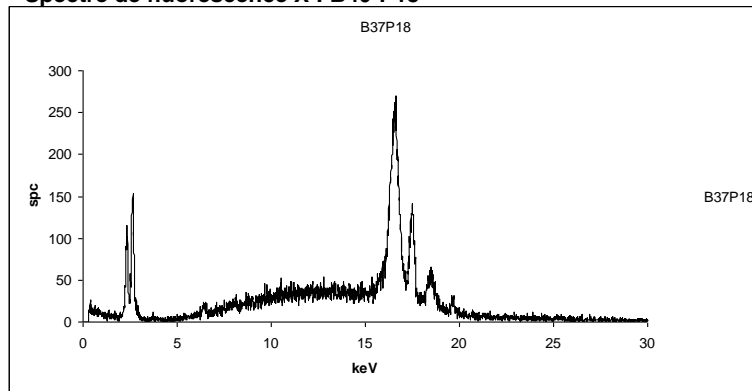
Espectro de absorción por reflexión difusa y derivada primera : B40-P18



Espectro Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P18



Espectro de fluorescencia X : B40-P18



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P20

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 37

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 459

Min. dérivée (nm) : 630

Max. Spectre Uv-vis : 254 ; 378 ; 512

Eléments Spectre de fluorescence X :

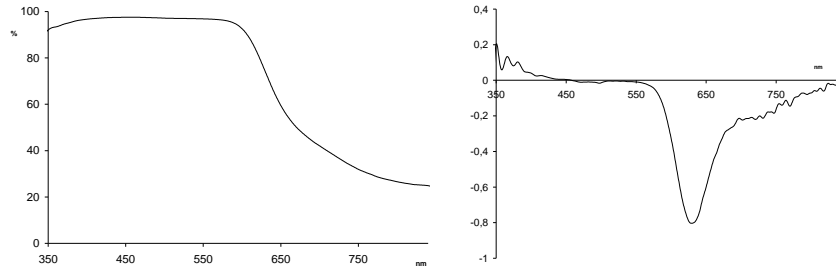
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1034	164	37	0,94	0
2	Cl	K12	2,622	16	403	163	27	1,14	0
3	K	K12	3,314	16	97	102	17	1,53	0
4	Ca	K12	3,692	16	169	94	19	2,02	0
5	Fe	K12	6,405	16	951	310	40	0,68	0
6	Cu	K12	8,046	16	185	419	32	1,78	0
7	Pb	L1	10,551	16	379	1071	50	2,33	0
8	Pb	M1	2,342	16	17	164	19	0,94	0

Coordonnées colorimétriques :

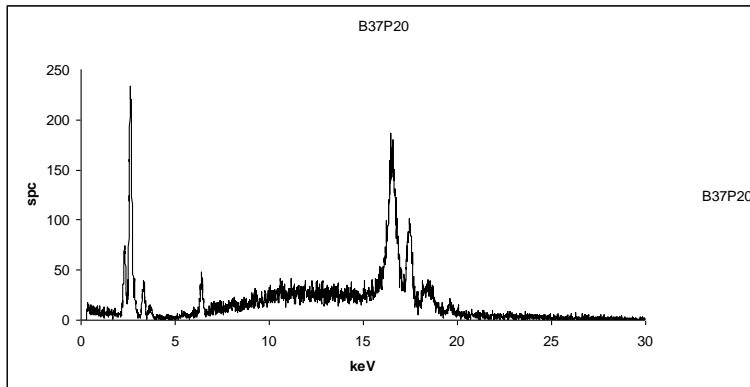
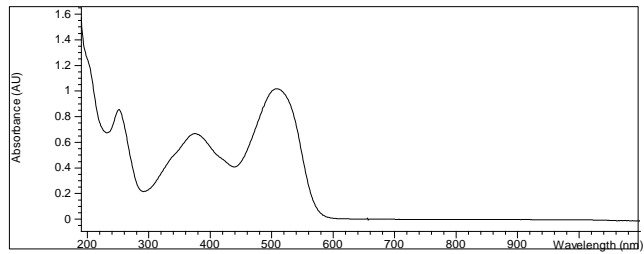
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
32,74	18,69	28,98	37,7	610	55,47	0,508	0,327	9,06	5,83	2,96	0,344	0,498

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P20





Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P20



FICHE DE DESCRIPTION

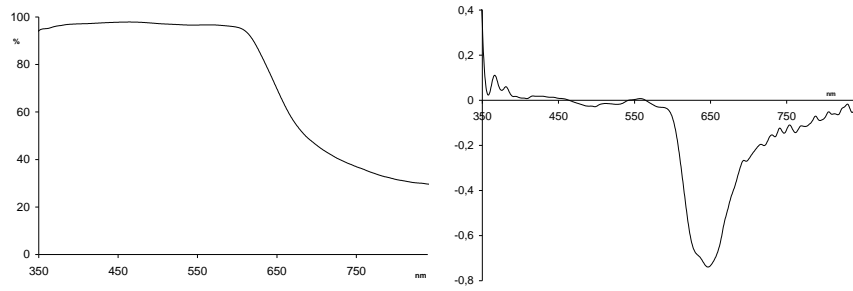
Référence de l'échantillon : B40-P21**Couleur :** Rouge**Nom :** Ecarlate Direct 3 BS**Fabricant :** Ciba**C.I. :** Direct rouge 39**Emballage :** Pot de métal**Bouchon :** Métal**Etat de conservation d'emballage :** Bon**Etat de conservation de l'échantillon :** Bon**Max. Spectre vis (nm) :** 466 ; 565**Min. dérivée (nm) :** 648**Max. Spectre Uv-vis :** 257 ; 381 ; 520**Eléments Spectre de fluorescence X :**

No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1034	164	37	0,94	0
2	Cl	K12	2,622	16	403	163	27	1,14	0
3	K	K12	3,314	16	97	102	17	1,53	0
4	Ca	K12	3,692	16	169	94	19	2,02	0
5	Fe	K12	6,405	16	951	310	40	0,68	0
6	Zn	K12	8,637	16	669	749	47	1,27	0
7	Br	K12	11,924	16	142	1316	53	1,33	0
8	Br	L1	1,481	16	10	115	15	0,95	0
9	Pb	L1	10,551	16	379	1071	50	2,33	0
10	Pb	M1	2,342	16	17	164	19	0,94	0

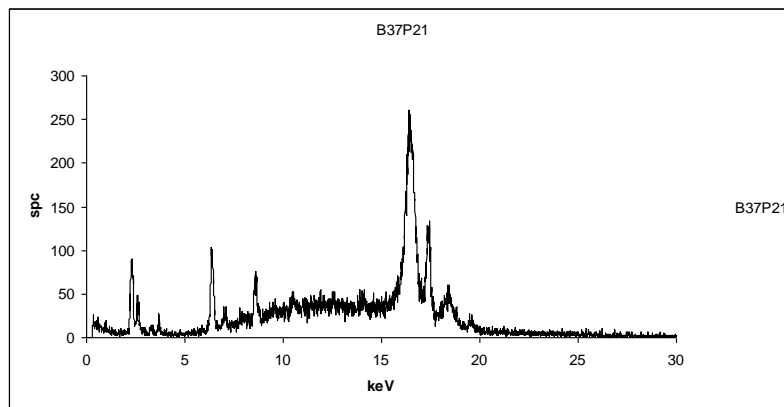
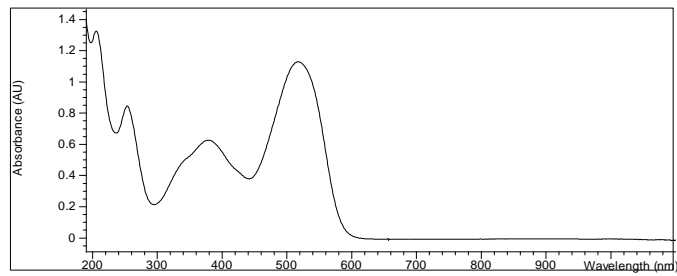
Coordonnées colorimétriques :

a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
22,8	14,8	25,64	27,18	604	47,3	0,468	0,336	6,44	4,63	2,69	0,307	0,496

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P21



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P21



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P22

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

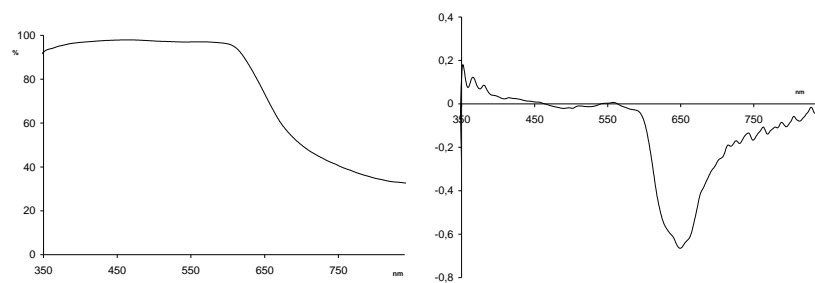
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1271	183	40	1,67	0
2	Cl	K12	2,622	16	655	191	32	0,95	0
3	K	K12	3,314	16	185	113	20	0,69	0
4	Ca	K12	3,692	16	219	107	21	0,84	0
5	Fe	K12	6,405	16	6462	346	85	4,64	0
6	Zn	K12	8,637	16	290	756	42	2,29	0
7	Br	K12	11,924	16	150	1402	54	1,51	0
8	Br	L1	1,481	16	8	128	16	2,65	0
9	Pb	L1	10,551	16	273	1180	51	1,26	0
10	Pb	M1	2,342	16	7	185	19	2,01	0

Coordonnées colorimétriques :

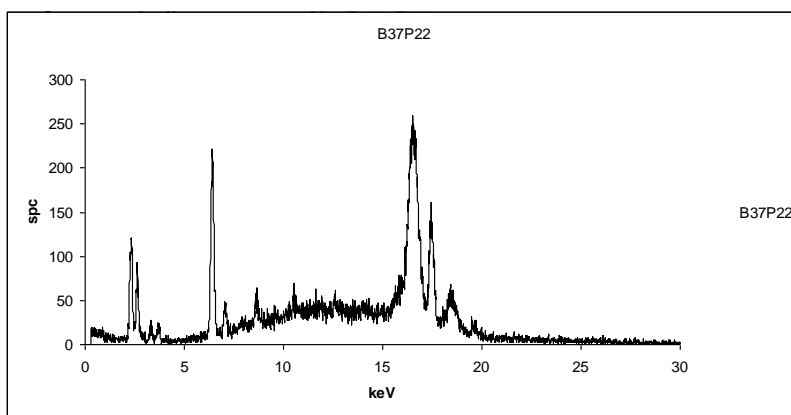
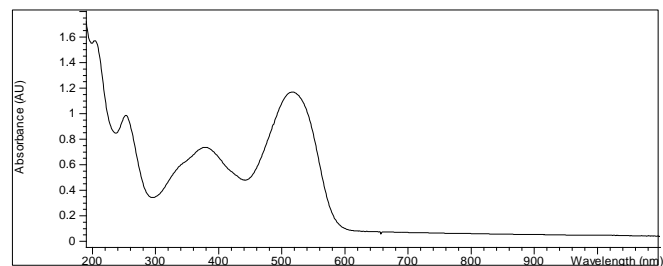
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
22,1	12,77	24,22	25,52	607	43,59	0,461	0,331	5,81	4,17	2,63	0,305	0,492



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P22



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P22



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P23

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

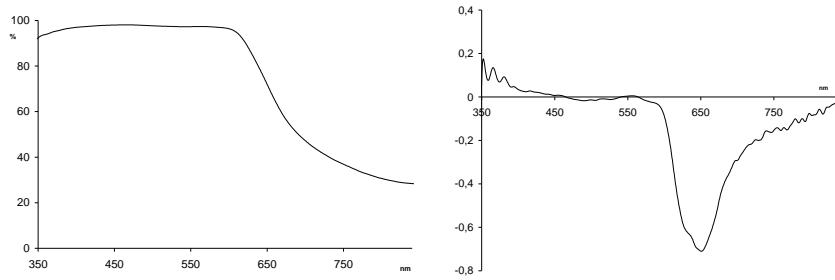
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1136	179	39	0,89	0
2	Cl	K12	2,622	16	604	176	31	1,98	0
3	K	K12	3,314	16	162	76	18	0,81	0
4	Ca	K12	3,692	16	282	88	21	2,29	0
5	Fe	K12	6,405	16	1088	310	41	3,83	0
6	Zn	K12	8,637	16	1621	857	58	4,57	0
7	Br	K12	11,924	16	546	1405	58	1,68	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	384	1228	53	2,99	0
10	Pb	M1	2,342	16	20	180	20	0,89	0

Coordonnées colorimétriques :

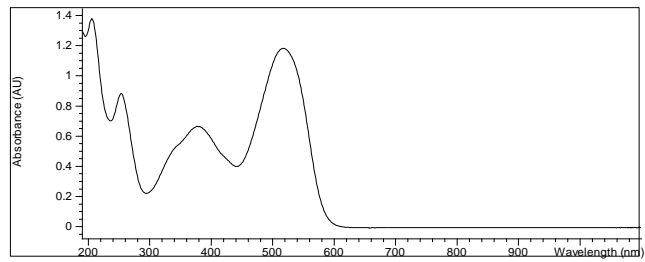
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
23,99	13,14	23,61	27,35	609	46	0,472	0,327	5,75	3,98	2,44	0,316	0,492



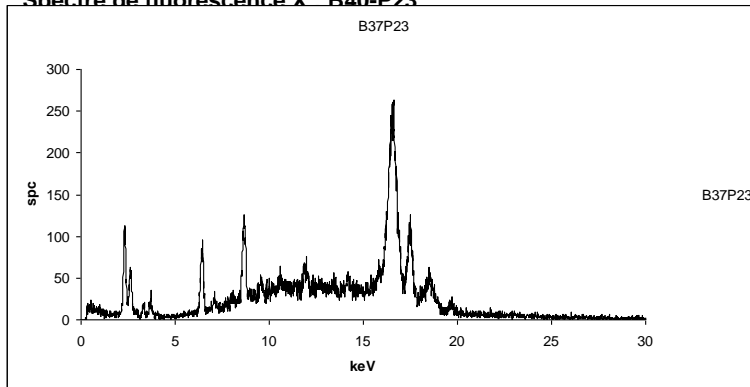
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B40-P23



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P23



Spectre de fluorescence X · B40-P23



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P24

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

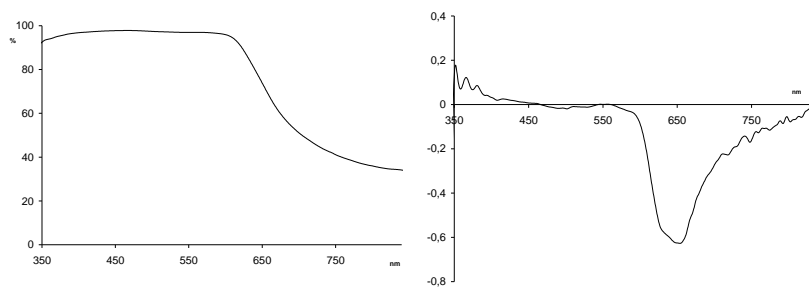
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	919	148	35	2,72	0
2	Cl	K12	2,622	16	461	152	28	0,9	0
3	K	K12	3,314	16	140	93	18	0,65	0
4	Ca	K12	3,692	16	175	85	19	0,59	0
5	Fe	K12	6,405	16	2672	265	57	3,69	0
6	Zn	K12	8,637	16	318	647	40	1,81	0
7	Br	K12	8,046	16	114	522	34	1,28	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	303	1048	49	2,35	0
10	Pb	M1	2,342	16	0	149	17	2,12	0

Coordonnées colorimétriques :

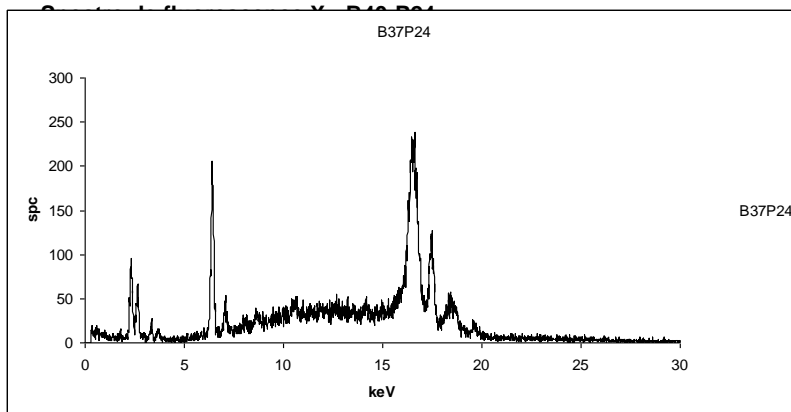
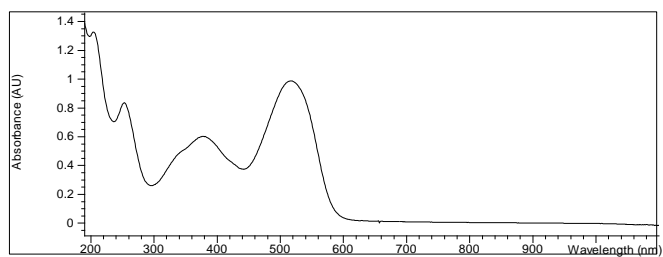
a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
21,94	12,26	24,32	25,13	607	42,55	0,457	0,329	5,84	4,2	2,73	0,303	0,491



Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première : B40-P24



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P24



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P25

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	928	156	35	1,02	0
2	Cl	K12	2,622	16	359	152	26	0,72	0
3	K	K12	3,314	16	96	83	16	0,84	0
4	Ca	K12	3,692	16	274	82	21	0,3	0
5	Fe	K12	6,405	16	1020	261	39	2,44	0
6	Zn	K12	8,637	16	1400	731	54	2,46	0
7	Br	K12	8,046	16	143	551	35	1,43	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	325	971	48	1,56	0
10	Pb	M1	2,342	16	20	156	18	1,01	0

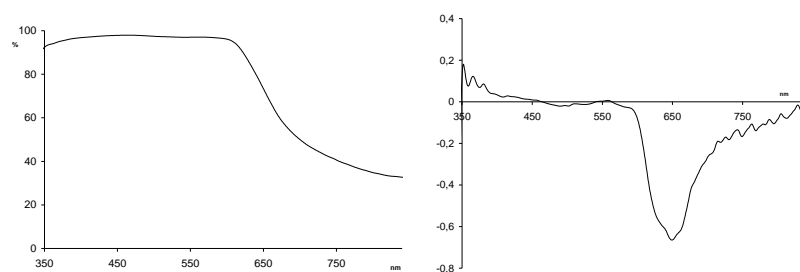
Coordonnées colorimétriques :

a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v

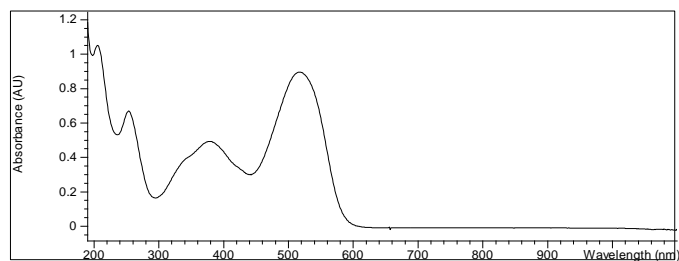


22,1	12,77	24,22	25,52	607	43,59	0,461	0,331	5,81	4,17	2,63	0,305	0,492
------	-------	-------	-------	-----	-------	-------	-------	------	------	------	-------	-------

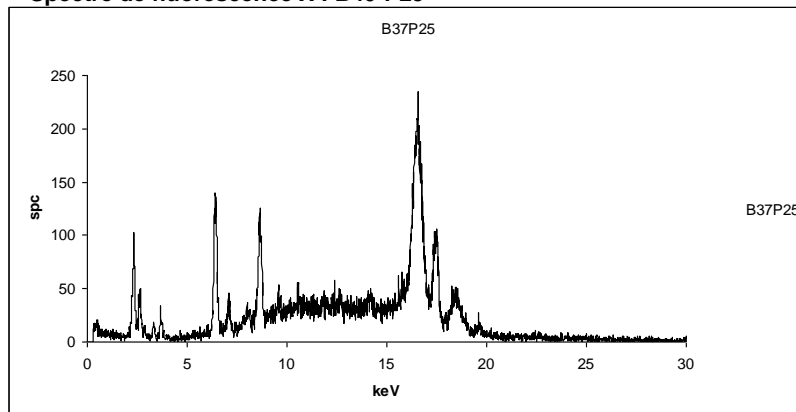
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P25



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P25



Spectre de fluorescence X : B40-P25



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P26

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1111	168	38	1,39	0
2	Cl	K12	2,622	16	535	173	30	2,02	0
3	K	K12	3,314	16	179	98	19	2,67	0
4	Ca	K12	3,692	16	306	89	22	1,07	0
5	Fe	K12	6,405	16	1327	318	44	1,31	0
6	Zn	K12	8,637	16	1286	808	54	2,47	0
7	Br	K12	8,046	16	165	638	38	0,64	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	397	1090	51	3,66	0
10	Pb	M1	2,342	16	0	170	18	0,87	0

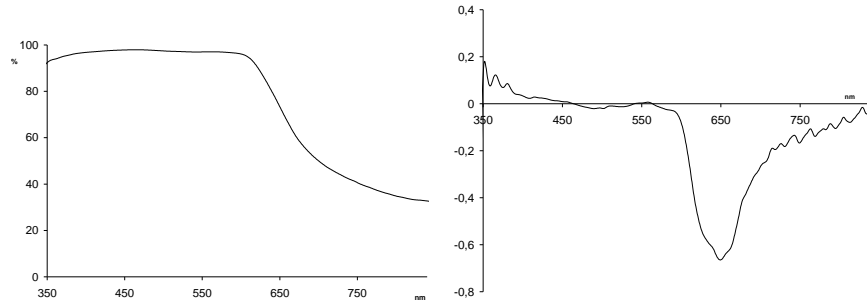
Coordonnées colorimétriques :

a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---	---	---

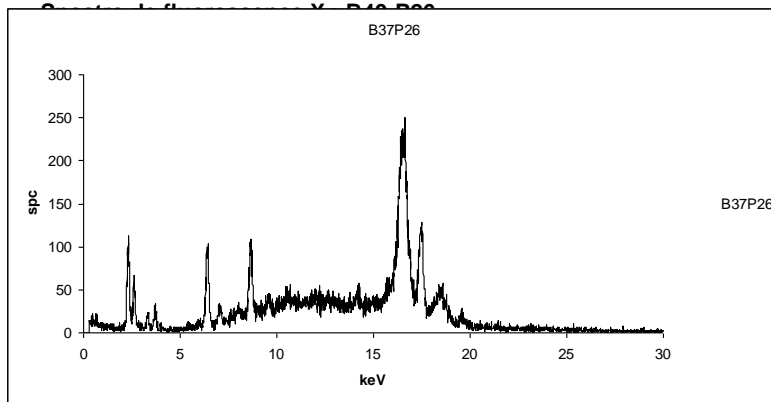
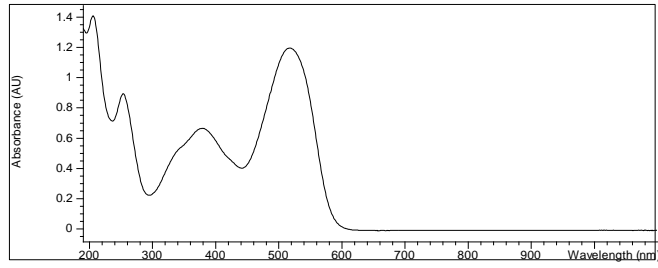


22,1	12,77	24,22	25,52	607	43,59	0,461	0,331	5,81	4,17	2,63	0,305	0,492
------	-------	-------	-------	-----	-------	-------	-------	------	------	------	-------	-------

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P26



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P26



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P27

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1082	143	37	1,15	0
2	Cl	K12	2,622	16	532	151	29	1,94	0
3	K	K12	3,314	16	148	87	18	1,23	0
4	Ca	K12	3,692	16	139	83	17	0,81	0
5	Fe	K12	6,405	16	2572	293	56	2,08	0
6	Zn	K12	8,637	16	145	752	41	0,46	0
7	Br	K12	8,046	16	54	583	35	1,01	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	356	1107	51	2,82	0
10	Pb	M1	2,342	16	26	145	18	1,15	0

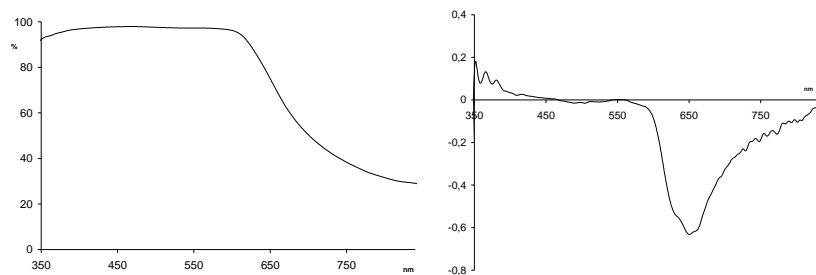
Coordonnées colorimétriques :

a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---	---	---

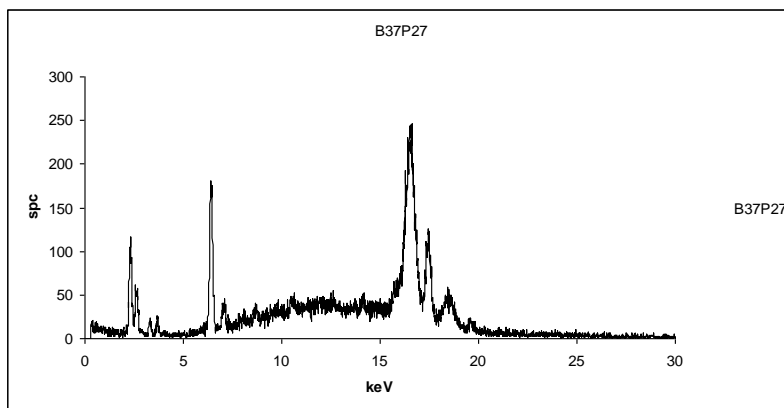
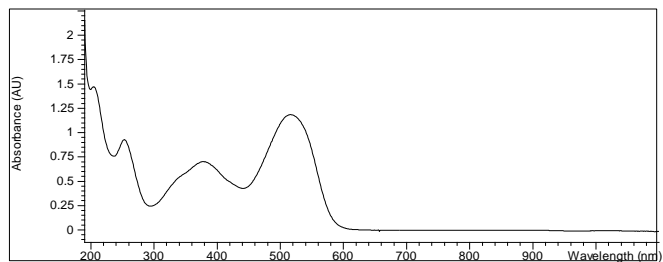


22,11	11,52	23,47	24,93	610	41,34	0,457	0,326	5,53	3,94	2,62	0,305	0,489
-------	-------	-------	-------	-----	-------	-------	-------	------	------	------	-------	-------

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P27



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P27



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P28

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

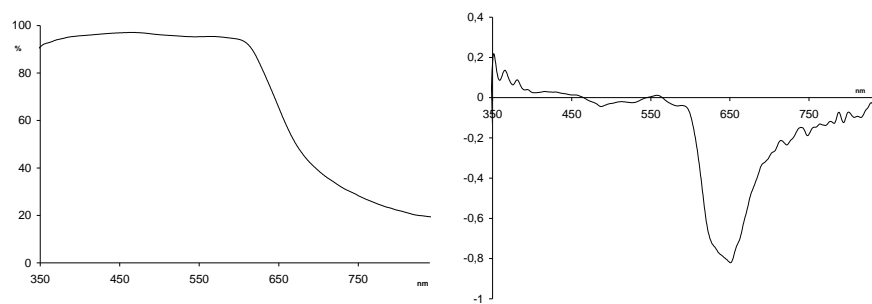
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1008	159	36	1,67	0
2	Cl	K12	2,622	16	579	165	30	0,51	0
3	K	K12	3,314	16	103	111	18	0,98	0
4	Ca	K12	3,692	16	168	106	20	1,42	0
5	Fe	K12	6,405	16	1069	269	40	1,73	0
6	Zn	K12	8,637	16	701	792	48	0,81	0
7	Br	K12	8,046	16	289	606	39	1,44	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	293	1125	50	1,83	0
10	Pb	M1	2,342	16	29	161	19	1,72	0

Coordonnées colorimétriques :

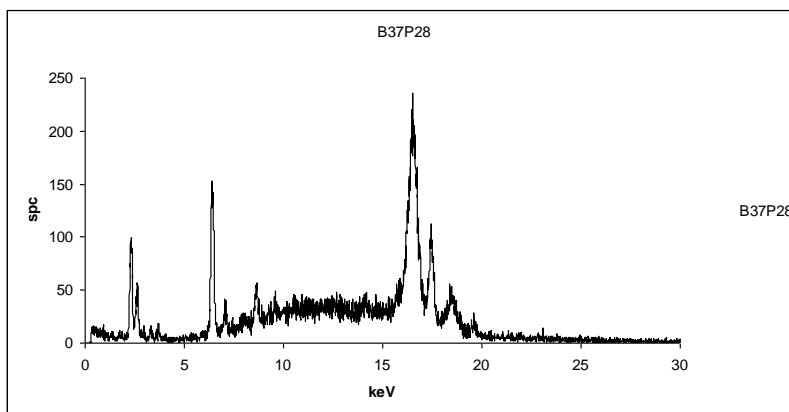
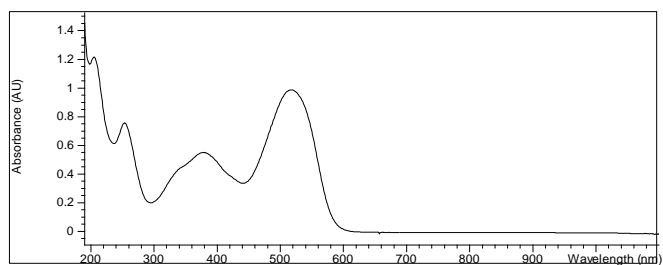


a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
21,76	14,82	29,52	26,33	602	43,36	0,452	0,339	8,06	6,04	3,75	0,293	0,495

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P28



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P28



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P29

Couleur : Rouge

Nom : Ecarlate Direct 3 BS

Fabricant : Ciba

C.I. : Direct rouge 39

Emballage : Pot de métal

Bouchon : Métal

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 466 ; 565

Min. dérivée (nm) : 648

Max. Spectre Uv-vis : 257 ; 381 ; 520

Eléments Spectre de fluorescence X :

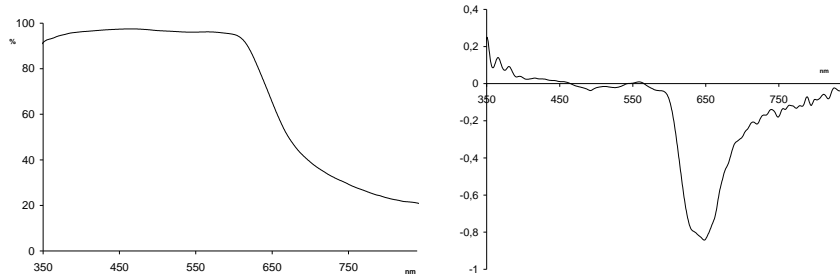
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1062	168	37	0,65	0
2	Cl	K12	2,622	16	542	170	30	3	0
3	K	K12	3,314	16	84	113	18	0,81	0
4	Ca	K12	3,692	16	149	109	19	0,98	0
5	Fe	K12	6,405	16	951	286	39	1,92	0
6	Zn	K12	8,637	16	722	759	47	1,7	0
7	Br	K12	8,046	16	141	564	36	1,64	0
8	Br	L1	1,481	16	10	125	16	2,39	0
9	Pb	L1	10,551	16	216	1066	48	2,59	0
10	Pb	M1	2,342	16	1	169	18	0,59	0

Coordonnées colorimétriques :

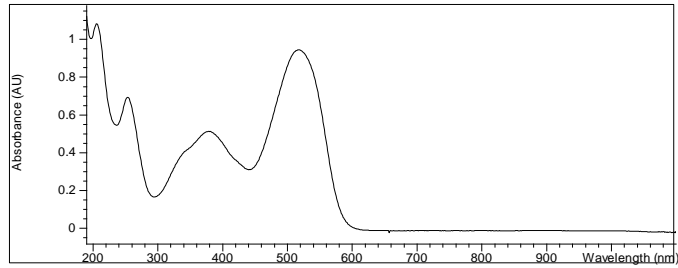


a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
23,75	14,8	27,66	27,98	605	45,6	0,464	0,334	7,41	5,33	3,21	0,305	0,495

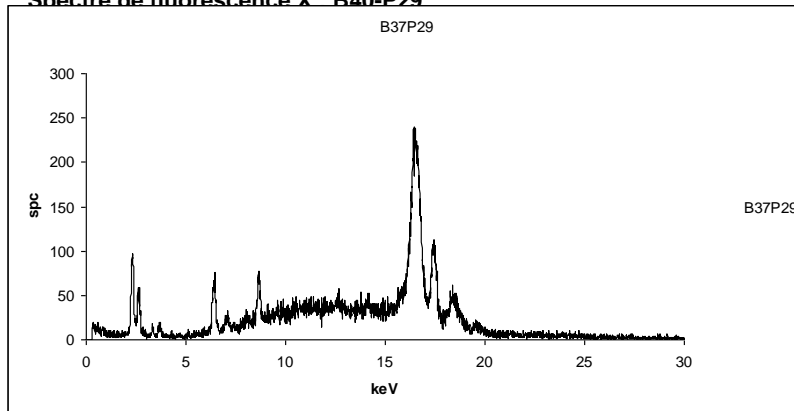
Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P29



Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P29



Spectre de fluorescence X · B40-P29



FICHE DE DESCRIPTION

Référence de l'échantillon : B40-P42

Couleur : Rouge

Nom : Rouge aquamine B SL

Fabricant : Sandoz

C.I. : Acide rouge 57

Emballage : Flacon de verre

Bouchon : Verre

Etat de conservation d'emballage : Bon

Etat de conservation de l'échantillon : Bon

Max. Spectre vis (nm) : 501

Min. dérivée (nm) : 627

Max. Spectre Uv-vis : 249 ; 309 ; 526

Éléments Spectre de fluorescence X :

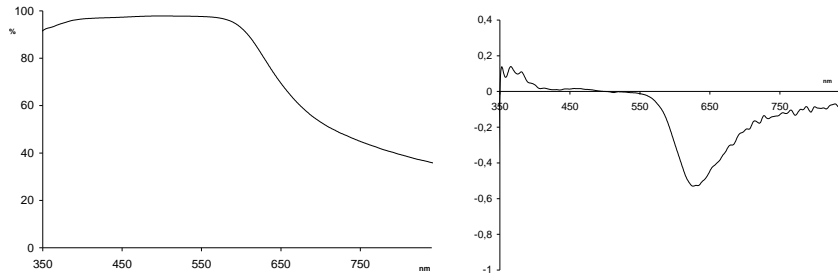
No.	Element	Line	Energy/keV	Cycl.	Net	Backgr.	Sigma	Chi	Conc./%
1	S	K12	2,309	16	1453	187	43	1,82	0
2	Cl	K12	2,622	16	406	176	28	1,41	0
3	Fe	K12	6,405	16	1100	259	40	2,34	0
4	Cu	K12	8,046	16	342	453	35	2,65	0
5	Br	K12	11,924	16	105	1339	53	1,35	0
6	Br	L1	1,481	16	16	137	17	1,5	0
7	Pb	L1	10,551	16	683	1087	53	1,98	0
8	Pb	M1	2,342	16	50	187	21	1,96	0

Coordonnées colorimétriques :

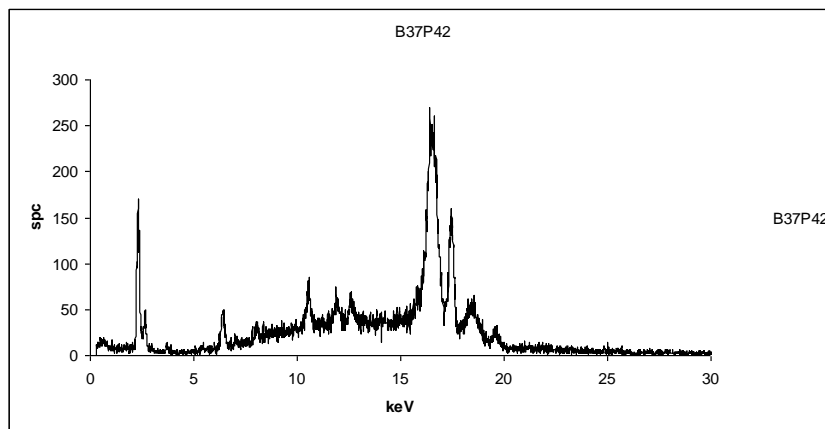
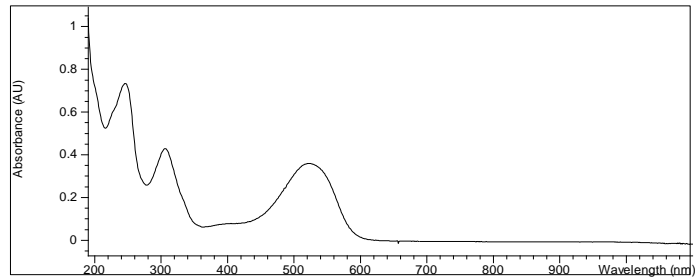


a*	b*	L*	C*	Ld	Pe	x	y	X	Y	Z	u	v
32,08	13,27	26,19	34,72	624	46,76	0,492	0,311	7,62	4,81	3,05	0,343	0,487

Spectre d'absorption par réflexion diffuse et dérivée première: B40-P42



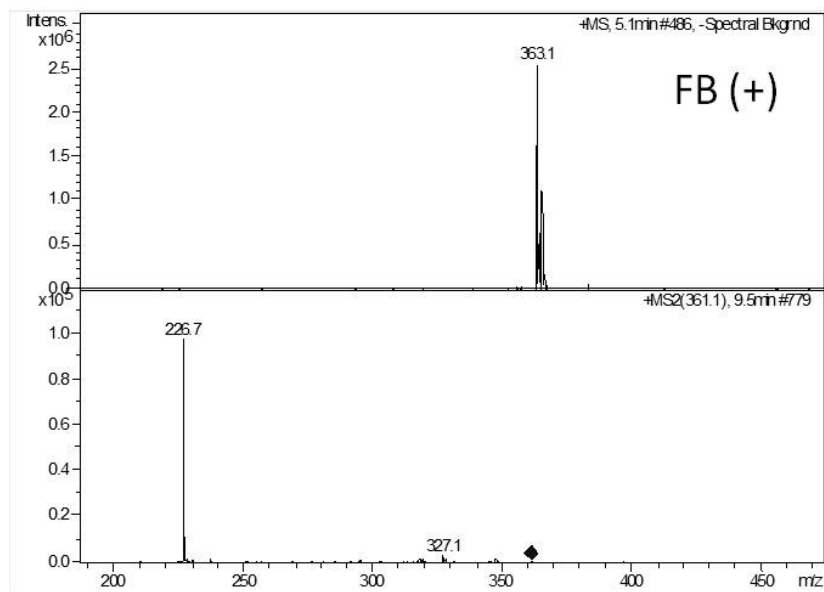
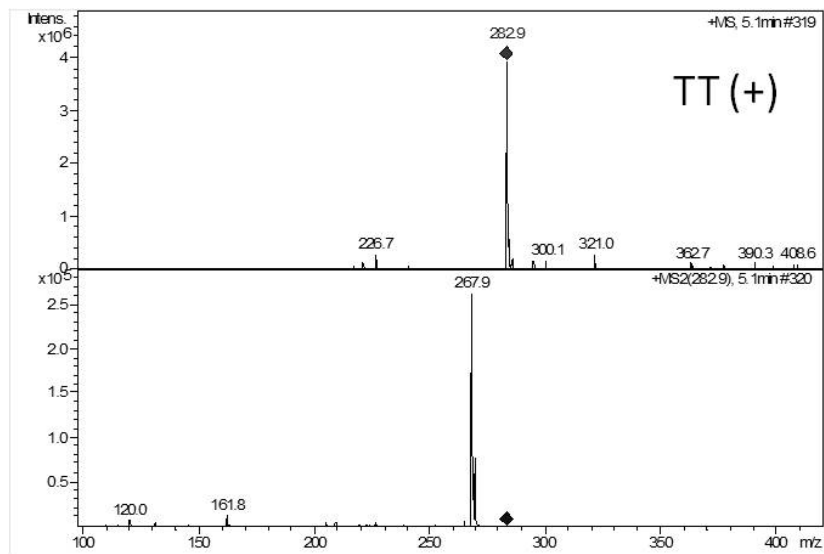
Spectre Uv-vis par spectrophotométrie : B40-P42

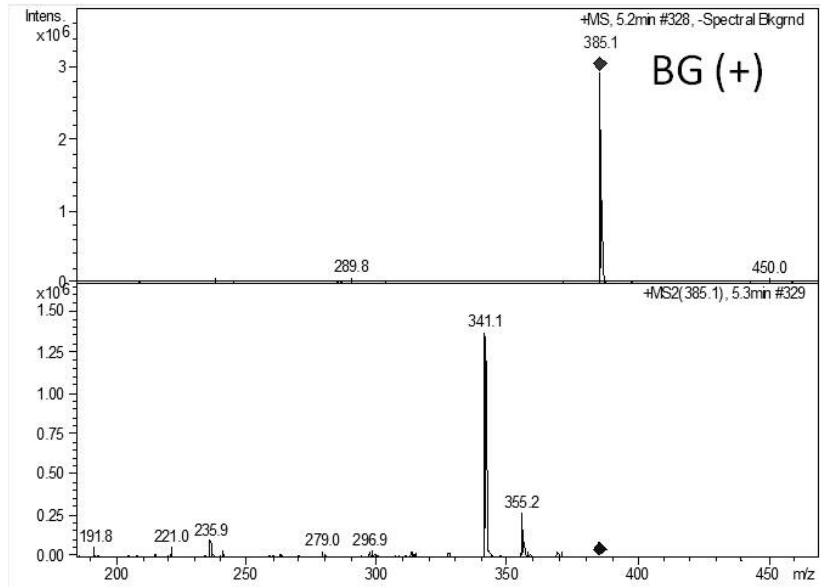
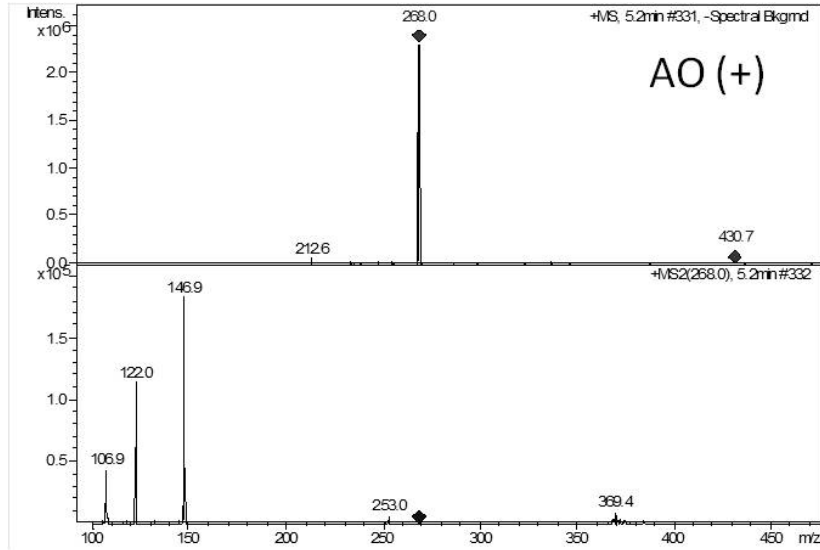


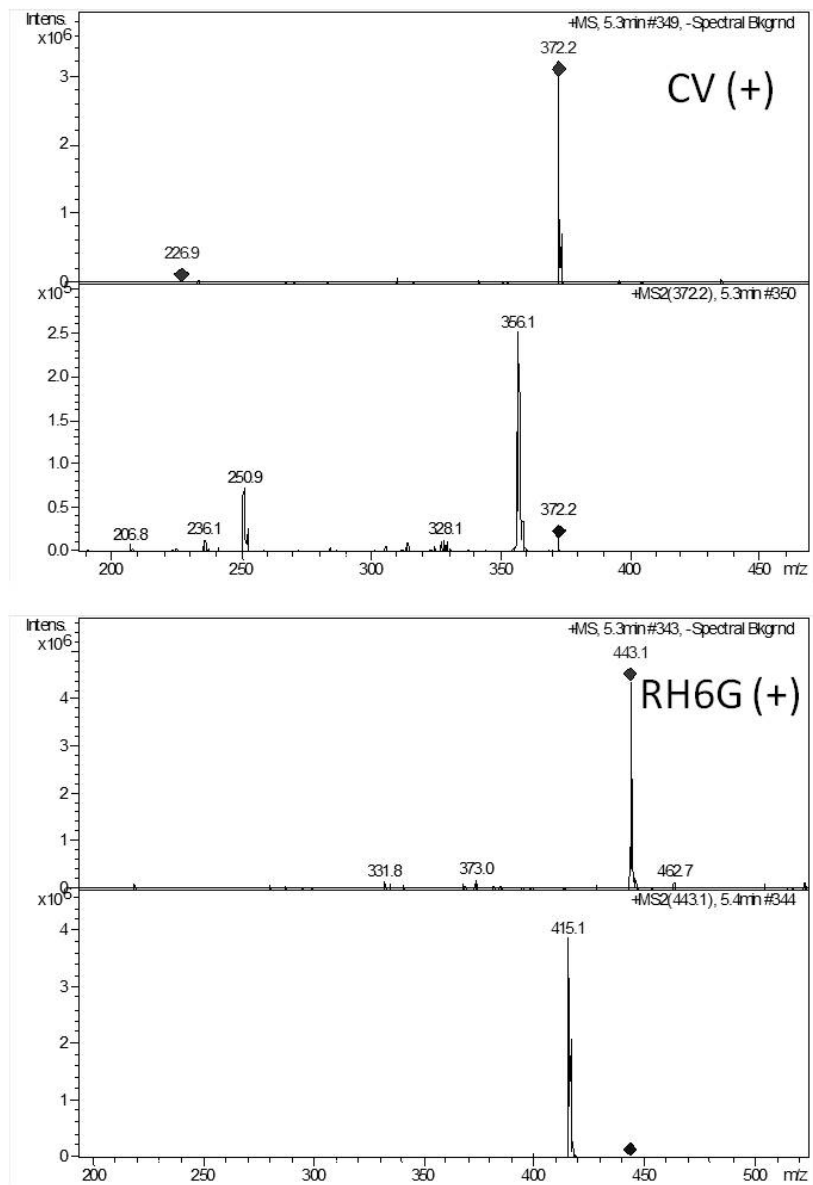
Apéndice C

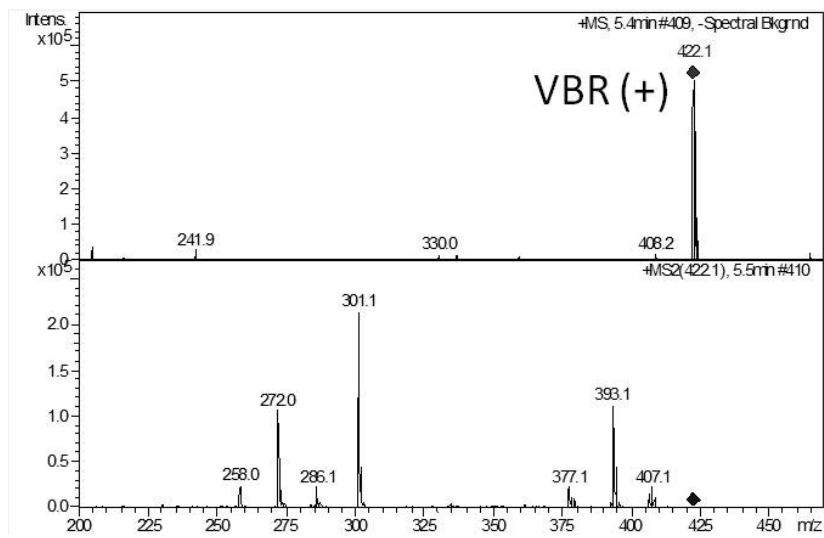
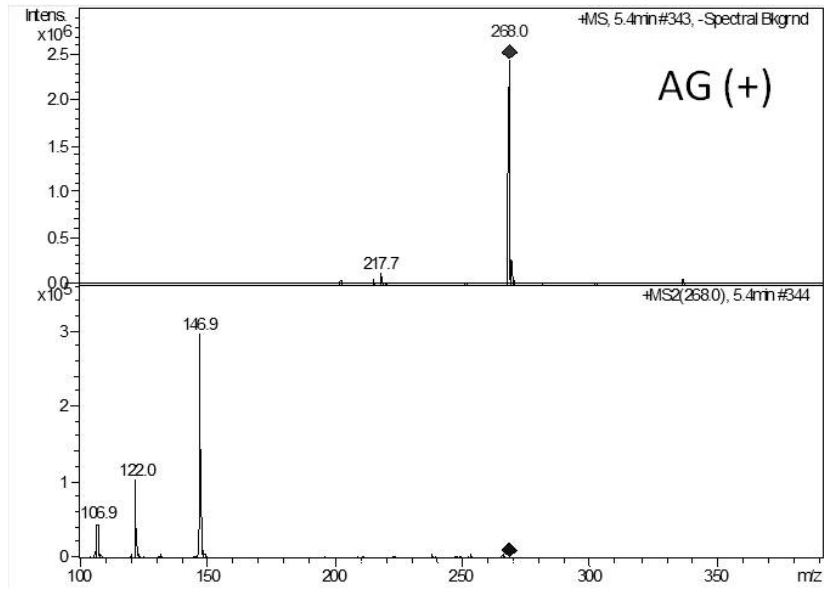
MS and MS² spectra of synthetic dyes in colour photographs

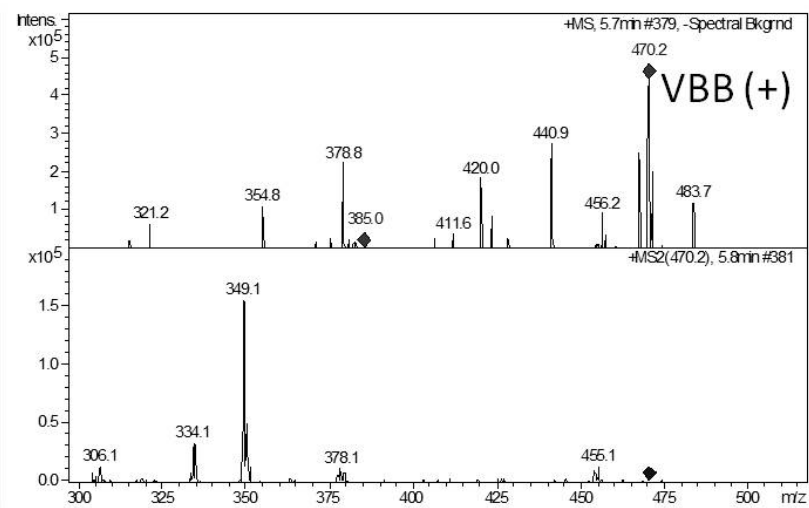
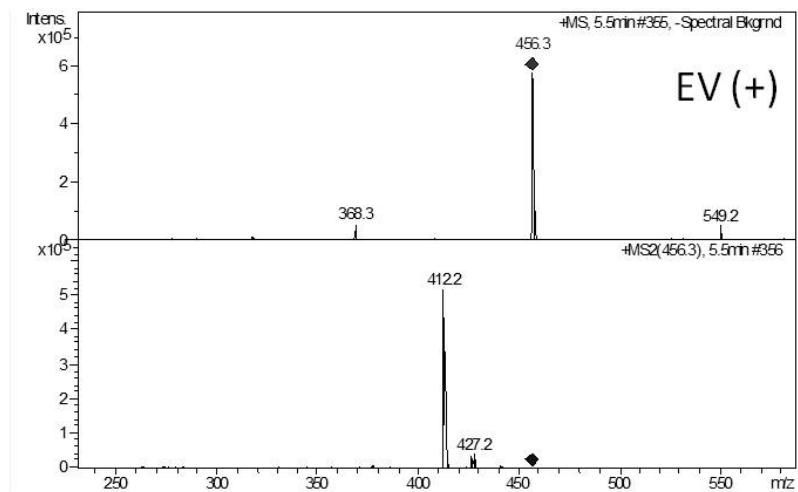
MS and MS²spectra of the cationic and anionic synthetic dyes. Abbreviations can be found in the text (section 1.4.2.1). Charge is marked in parenthesis.

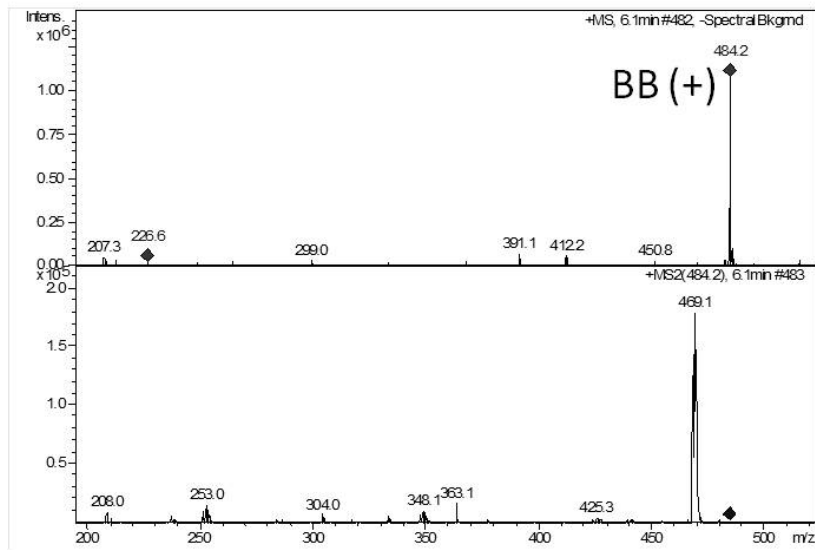
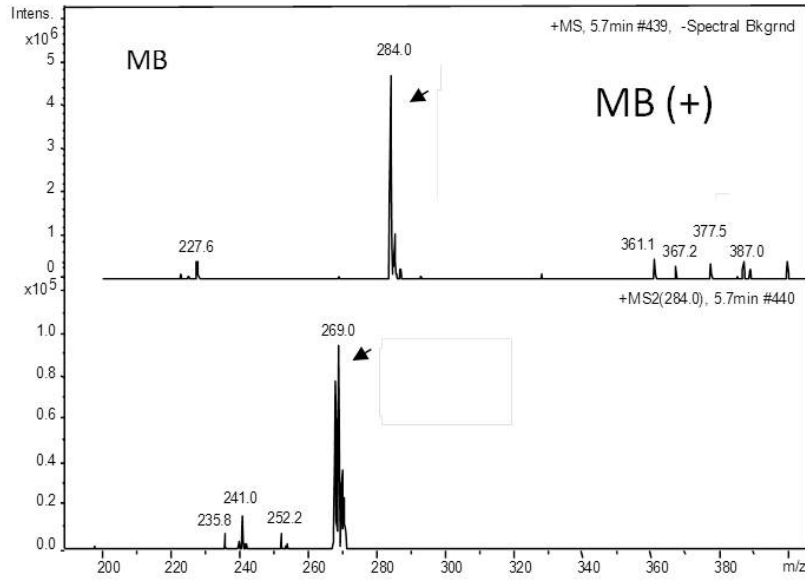


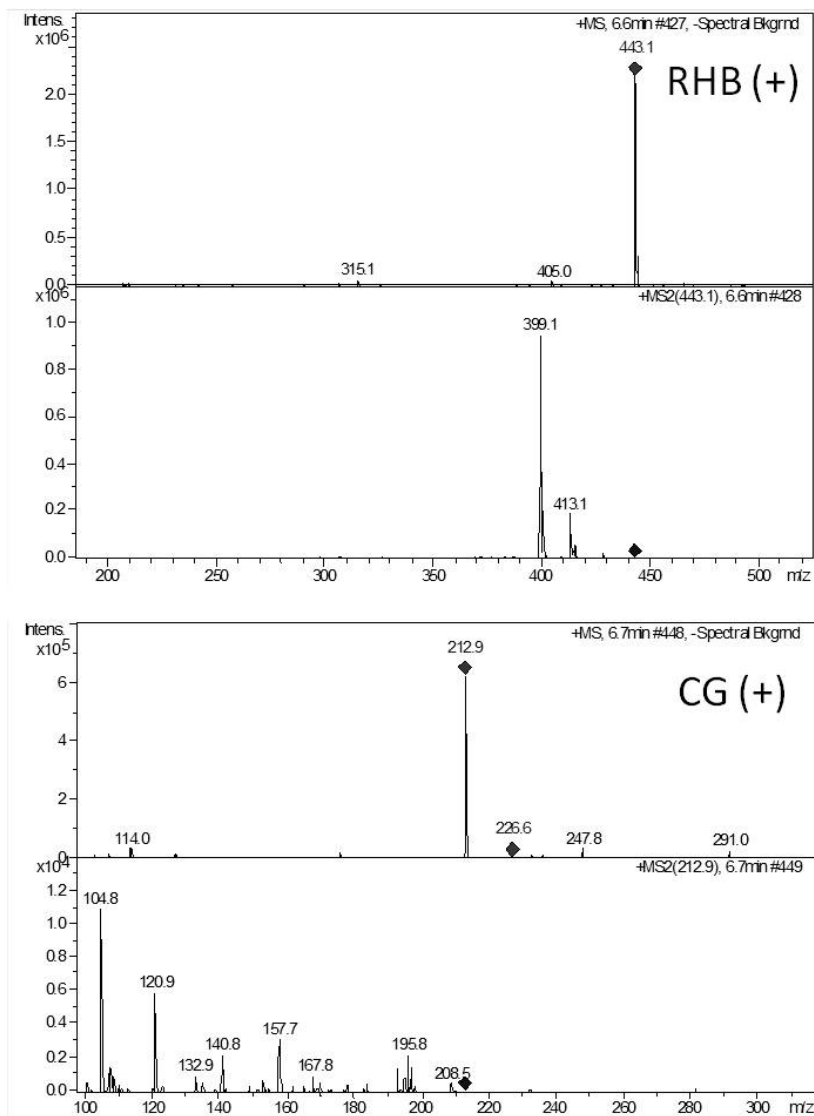


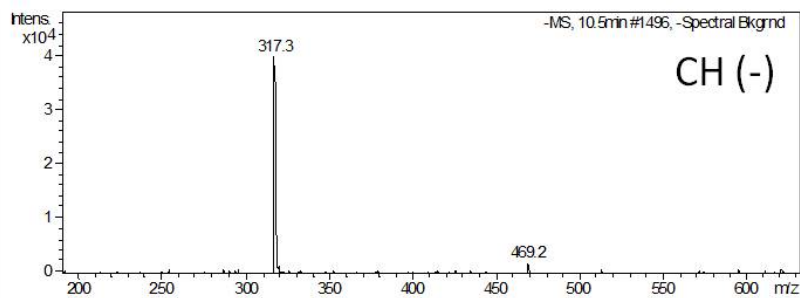
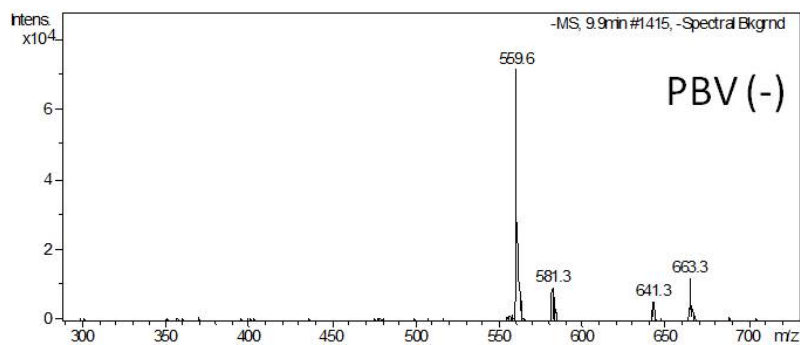
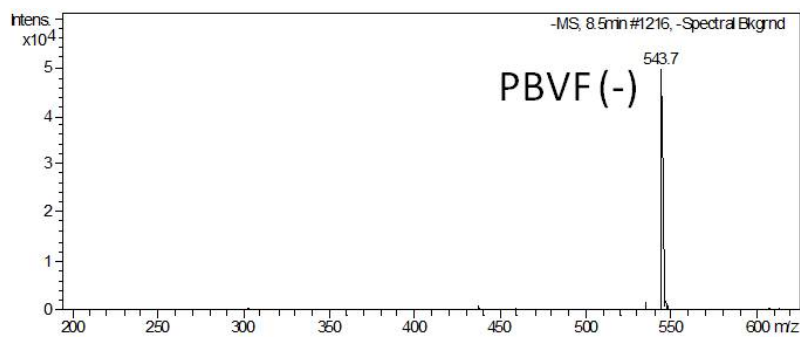


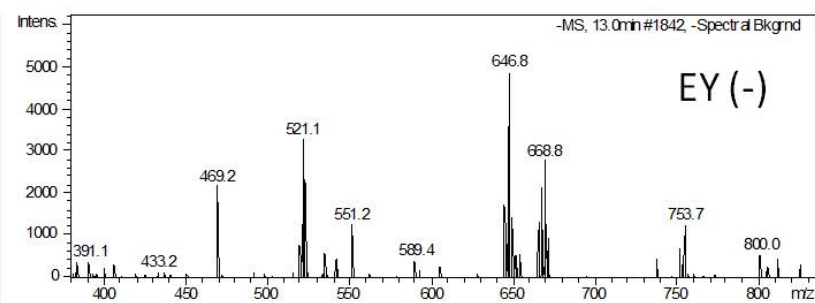
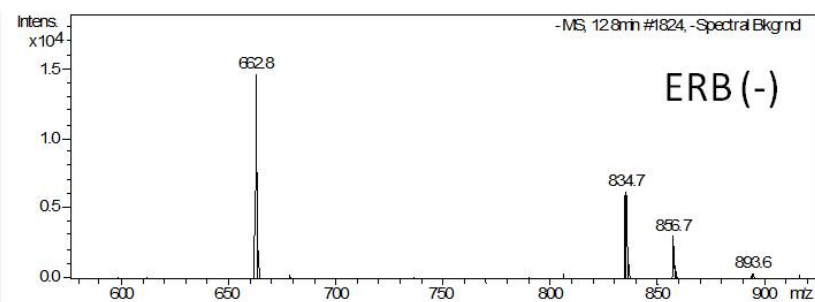
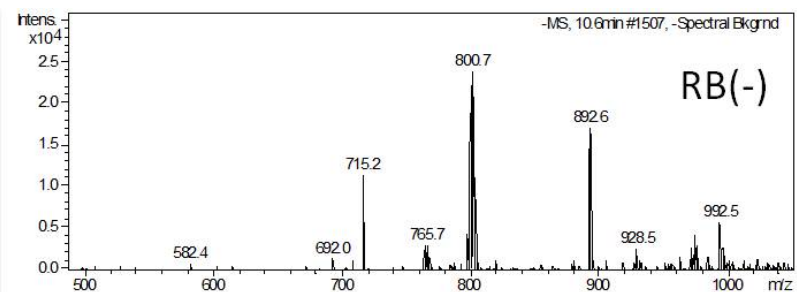


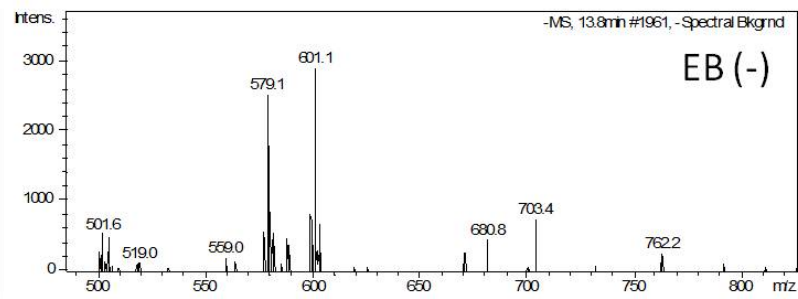
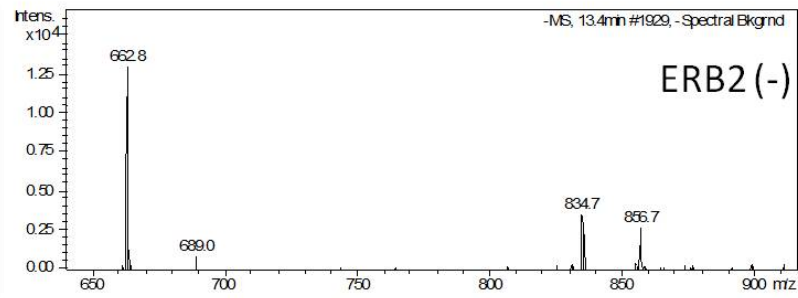
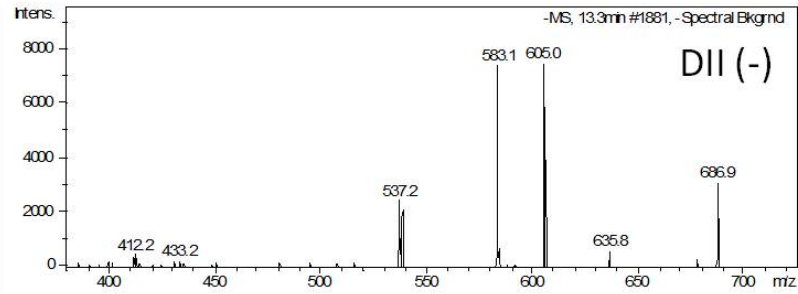












Nomenclatura

AG	Auramina G - Auramine G
AO	Auramina O - Auramine O
BB	Azul Basonyl - Basonyl Blue
BG	verde brillante - Brillant green
C.I.	Colour Index
CE	Electroforesis capilar
CG	Crisoidina G - Chrysoidine G
CGE	Electroforesis capilar en gel
CH	Crisofenina - Chrysophenine
CICN	Colour Index Constitution Number
CIEF	Isoelectroenfoque capilar
CIGN	Colour Index Generic Name
CITP	Isotacoforesis capilar
CV	Viiioleta cristal - Crystal violet
CZE	Electroforesis capilar en zona
DII	diidofluoresceina - Diiodofluorescein

EB	Eosina B - Eosin B
EDX	Energía dispersiva de rayos X
ERB	Eritrosina B - Erythrosine B
ERB2	Eritrosina B:2 - Erythrosine B:2
ESI-MS	Detector de masas con ionización electrospray
ESI-MS	Detector de masas con ionización por electronebulizador
EV	Violeta de etilo - Ethyl violet
EY	Eosina Y - Eosin Y
FB	Azul 819 Flexo - Flexo Blue 810
FEO	Flujo electroosmótico
FRX	Fluorescencia de rayos X
FTIR	espectrometría infrarroja por transformada de Fourier
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IR	Espectrometría infrarroja
MB	Azul de metileno - Methylene blue
PBV	Azul patente V - Patent Blue V
PBVF	Azul patente VF - Patent Blue VF
PDA	detector de diodos en línea
RB	Rojo Bengal - Rose Bengal
RH6G	Rodamina 6G - Rhodamine 6G
RHB	Rodamina B - Rhodamine B
SEM	Microscopía electrónica de barrido

TLC	Cromatografía en capa fina
TT	Tioflavina T - Thioflavin T
UV	Ultravioleta
VBB	Azul Victoria B - Victoria Blue B
VBR	Azul Victoria R - Victoria blue R
XRD	Difracción de rayos X