

Ανίχνευση πρωτεϊνικών συνδετικών μέσων σε στρωματογραφικές τομές, με εκλεκτικό χρωματισμό και μικροσκοπία φθορισμού. Εφαρμογή της μεθοδολογίας σε συνδετικά μέσα μεταβυζαντινών φορητών εικόνων της Εθνικής Πινακοθήκης – Μουσείου Αλεξάνδρου Σούτζου

A.V. Terlixi¹, M. Doulgeridis², E. Ioakimoglou³

¹ Conservator of Works of Art, National Gallery of Athens – Alexandros Soutzos Museum.

² Head of the Department of Conservation, National Gallery of Athens – Alexandros Soutzos Museum.

³ Professor, Technological Educational Institution of Athens, Department of Conservation of Works of Art and Antiquities.

Εισαγωγή

Οι χημικοί και οι συντηρητές των μουσείων, πριν από την ενδεχόμενη επέμβαση συντήρησης, χρησιμοποιούν πολυάριθμες αναλυτικές τεχνικές για να προβούν στον χαρακτηρισμό των οργανικών υλικών κατασκευής. Ιδιαίτερα οι μέθοδοι μικροχημικού προσδιορισμού είναι απλές τεχνικές με τις οποίες επιτυγχάνεται η ανίχνευση και ο εντοπισμός πρωτεϊνικών ή ελαιωδών συνδετικών μέσων στα διάφορα χρωματικά στρώματα. Οι τεχνικές αυτές αποτελούν απαραίτητο προκαταρκτικό στάδιο για τη φασματοσκοπική και χρωματογραφική ανάλυση των συνδετικών μέσων.

Η μέθοδος του εκλεκτικού χρωματισμού εκμεταλλεύεται την ιδιότητα των πρωτεϊνών να ενώνονται επιλεκτικά με ορισμένες οργανικές χρωστικές, όπως η όξινη φουξίνη, το *poir amide* και άλλες. Οι χρώσεις γίνονται πάνω σε στρωματογραφικές τομές και η παρατήρησή τους πραγματοποιείται πάνω σε φωτομικροσκόπιο με ανακλώμενο φωτισμό.

Η μικροσκοπία φθορισμού είναι μια τεχνική με την οποία παρατηρείται ο φθορισμός των υλικών. Αυτός προκαλείται με ακτινοβόληση των στρωματογραφικών τομών με υπεριώδη ή ορατή ακτινοβολία. Για την ενίσχυση του φθορισμού των πρωτεϊνικών συνδετικών μέσων χρησιμοποιούνται συνήθως φθορίζουσες ενώσεις που έχουν την ιδιότητα να ενώνονται επιλεκτικά με τις πρωτεΐνες όπως η φλουορεσαμίνη, το ισοθειοκυανιούχος ένωση της φλουοροσκεΐνης (FITC), και άλλες.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν με εκλεκτικό χρωματικό χρωματισμό και μικροσκοπία φθορισμού πρότυπα δείγματα με σκοπό την κατανόηση των μηχανισμών χρώσεων και τη δημιουργία αρχείου. Η κατασκευή των πρότυπων δειγμάτων βασίστηκε σε ιστορικά στοιχεία για τη βυζαντινή ζωγραφική.

Σε δεύτερη φάση, μελετήθηκαν δείγματα από δύο φορητές μεταβυζαντινές εικόνες της Εθνικής Πινακοθήκης – Μουσείου Αλεξάνδρου Σούτζου, με στόχο το χαρακτηρισμό των συνδυασμών μέσων και τη μελέτη των τεχνικών κατασκευής τους. Για τον εντοπισμό των πρωτεϊνών στα διάφορα χρωματικά στρώματα των φορητών εικόνων χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα του αρχείου χρώσεων των προτύπων.

Εκλεκτικός χρωματισμός και μικροσκοπική παρατήρηση στρωματογραφικών τομών προτύπων δειγμάτων

Οι χρώσεις των στρωματογραφικών τομών έγιναν σε επιστρώματα αυγοτέμπερας με διάφορες χρωστικές πάνω σε λευκή προετοιμασία (Gesso + λευκό του ψευδαργύρου + ζωϊκή κόλλα). Για τις χρώσεις των πρότυπων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι χρωστικές όξινη φουξίνη και διαλύματα της χρωστικής Amido Black με διαφορετικά pH (NA₂, NA_{3,6} και NA₇). Το ουδέτερο διάλυμα NA₇ είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό για τη χρώση της ζελατίνης, ενώ τα όξινα διαλύματα (NA₂ και NA_{3,6}) χρωματίζουν καλύτερα τον κρόκο. Τα δείγματα εξετάστηκαν σε φωτομικροσκόπιο Leica DM/LM.

Μικροσκοπία φθορισμού σε στρωματογραφικές τομές προτύπων δειγμάτων

Η υπερϊώδης ακτινοβολία επιτρέπει την εμφάνιση των πρωτεϊνικών υλικών σε στρωματογραφικές τομές, τα οποία δίνουν γαλαζωπό φθορισμό (αυτοφθορισμός). Για την ενίσχυση του φθορισμού των πρωτεϊνών χρησιμοποιούνται συνήθως οργανικές φθορίζουσες ενώσεις.

Στις στρωματογραφικές τομές των πρότυπων δειγμάτων παρατηρήθηκε τόσο ο αυτοφθορισμός όσο και φθορισμός τους ύστερα από επεξεργασία με FITC και φλουορεσαμίνη (Fluorescamine).

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής των φθορίζόντων αντιδραστηρίων καθώς και τα χαρακτηριστικά των φίλτρων αποκοπής.

Φθορίζουσα ένωση	Διέγερση λ (nm)	Εκπομπή λ (nm,)	Τύπος φίλτρου	Χαρακτηριστικά φίλτρου		
				Περιοχή διέγερσης	Φίλτρο διέγερσης	Φίλτρο αποκοπής

Fluorescamine	390	480	A	UV	BP 340 - 380	LP 425
FITC	490	520	I3	Blue	BP 450 - 490	LP 515

Εκλεκτικός χρωματισμός και μικροσκοπία φθορισμού των αυθεντικών δειγμάτων

Μελετήθηκαν στρωματογραφικές τομές δειγμάτων από δύο εικόνες της Εθνικής Πνακοθήκης –Μουσείου Αλεξάνδρου Σούτζου:

- A) «Ο Ευαγγελιστής Λουκάς ζωγραφίζει την Παναγία», τέλη 16^{ου} αιώνα,
B) « Η Παναγία του Ισχυρού Μανδύα», 17^{ος} αιώνας,

Ενδεικτικά περιγράφονται τα αποτελέσματα του εκλεκτικού χρωματισμού και της μικροσκοπίας φθορισμού δύο δειγμάτων :

Δείγμα A1

Φορητή εικόνα «Ο Ευαγγελιστής Λουκάς ζωγραφίζει την Παναγία»

Θέση δειγματοληψίας: από το γκρι οίκημα.

Στο δείγμα έγινε χρώση με NA2 και παρατηρήθηκε χρωματισμός τόσο του χρωματικού στρώματος όσο και της προετοιμασίας που είναι ενδεικτικό της ύπαρξης πρωτεϊνών και στα δύο στρώματα. Η εξέταση των δειγμάτων με μικροσκοπία φθορισμού επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα του εκλεκτικού χρωματισμού.

Δείγμα B1

Φορητή εικόνα «Η Παναγία του Ισχυρού Μανδύα»

Θέση δειγματοληψίας: από το γκρι δάπεδο.

Στο δείγμα έγινε χρώση με όξινη φουξίνη και παρατηρήθηκε έντονος χρωματισμός στην προετοιμασία και λιγότερο έντονος στο χρωματικό στρώμα, αποτέλεσμα ενδεικτικό της ύπαρξης πρωτεϊνών και στα δύο στρώματα. Η εξέταση των δειγμάτων με μικροσκοπία φθορισμού επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα του εκλεκτικού χρωματισμού.

Αποτελέσματα - Συμπεράσματα

Ο συνδυασμός του εκλεκτικού χρωματισμού στρωματογραφιών τομών και της μικροσκοπίας φθορισμού επέτρεψε τον εντοπισμό των πρωτεϊνικών συνδετικών μέσων στα διάφορα χρωματικά στρώματα των μεταβυζαντινών εικόνων που εξετάστηκαν.

Η μικροσκοπία φθορισμού συγκριτικά με τον εκλεκτικό χρωματισμό παρουσιάζει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- A) επιτρέπει την ανίχνευση πρωτεϊνών σε πολύ μικρή συγκέντρωση και
- B) αναγνωρίζει τις πρωτεΐνες σε σκουρόχρωμες περιοχές της ζωγραφικής επιφάνειας

Ωστόσο, ο χαρακτηρισμός του είδους του πρωτεϊνικού συνδετικού μέσου των εικόνων απαιτεί την εφαρμογή φυσικοχημικών μεθόδων ανάλυσης, όπως π.χ φασματοσκοπικών και χρωματογραφικών τεχνικών.

Ευχαριστίες,

Ευχαριστούμε την κα. Ε. Καβαλιεράτου, συντηρήτρια έργων τέχνης της Εθνικής Πινακοθήκης – Μουσείου Αλεξάνδρου Σούτζου για την κατασκευή των πρότυπων επιστρωμάτων.