

# **STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr Darii Śmigiel-Kamińskiej**

## **OKREŚLENIE POTENCJAŁU TECHNIK CHROMATOGRAFICZNYCH DO IDENTYFIKACJI WŁÓKIEN TEKSTYLNYCH PODDANYCH DZIAŁANIU WYBRANYCH CZYNNIKÓW DESTRUKCYJNYCH DO CELÓW SĄDOWYCH**

Celem niniejszej pracy doktorskiej było określenia potencjału technik chromatograficznych do identyfikacji włókien tekstylnych, które zostały poddane działaniu środków dezynfekujących, sterylizujących oraz degradujących DNA do celów sądowych. Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki pozwoliły zrealizować wszystkie założone cele badawcze.

W ramach prowadzonych eksperymentów badaniom poddano dwa rodzaje włókien tekstylnych: naturalne – bawełniane barwione barwnikami reaktywnymi oraz syntetyczne – poliestrowe barwione barwnikami dyspersyjnymi. Przedstawicielem środków dezynfekujących był Incidin, Domestos, Sterinox, Quatovet, sterylizujących – Cidex, a degradujących DNA – DNA Away. Planowano poznać i scharakteryzować zmiany jakim podlegają próbki tekstylne poddane działaniu zastosowanych środków destrukcyjnych oraz ustalić czy techniki chromatograficzne (HPLC-DAD i UPLC-QTOF-MS) będą użytecznym narzędziem do ich analizy. Użyteczność zaproponowanego podejścia chromatograficznego planowano porównać z powszechnie stosowanymi do tego celu badaniami makroskopowymi, mikroskopowymi i spektroskopowymi.

Pierwszy etap badań dotyczył włókien bawełnianych i ośmiu barwników reaktywnych, którymi zostały one wybarwione. Przetestowano trzy metody chromatograficzne z użyciem techniki HPLC-DAD: dwie literaturowe oraz jedną samodzielnie opracowaną dla barwników dyspersyjnych [110]. Metody opisane przez Schotman'a i in. [58] oraz Hoy'a i in. [22] pozwoliły na zidentyfikowanie kolejno czterech oraz sześciu z ośmiu barwników reaktywnych obecnych we włóknach. Większość obserwowanych sygnałów miała niską intensywność. Metoda opracowana dla barwników dyspersyjnych okazała się w nieprzydatna do analizy barwników reaktywnych. Optymalizacja metody Hoy'a i in. [22] polegająca na przedłużeniu czasu trwania analizy z 5 min do 15 min oraz modyfikacji programu gradientowego pozwoliła na zidentyfikowanie wszystkich barwników reaktywnych. Jednocześnie podjęto próbę opracowania procedur analitycznych przy użyciu techniki UPLC-QTOF-MS do analizy barwników reaktywnych. Niestety z uwagi na problemy z jonizacją tych związków w źródle jonów ESI takie podejście analityczne było nieefektywne.

Ekstrakcja barwników reaktywnych z bawełny wymaga rozerwania trwałego wiązania kowalencyjnego barwnik reaktywny – bawełna (celuloza), co wiąże się z uzyskiwaniem w ekstraktach zhydrolizowanych form tych barwników. Oznacza to, iż wzorcami do analiz chromatograficznych powinny być przede wszystkim zhydrolizowane formy barwników reaktywnych. Kolejnym celem badań było zatem opracowanie warunków alkalicznej hydrolizy barwników reaktywnych, prowadzących do uzyskania zhydrolizowanych form tych barwników, przy jednoczesnej możliwie najniższej ich degradacji. Wstępnie przetestowano różne warianty tej reakcji dla barwnika reaktywnego Reactive red PD-3B (barwnik 8C). Stwierdzono, że optymalne jest stosowanie temperatury 100°C przez 60 min, przy stosunku molowym barwnika do wodorotlenku sodu 1:1. Przebieg zachodzących procesów monitorowano przy wykorzystaniu chromatografii cienkowarstwowej (TLC) z zastosowaniem czterech różnych układów rozwijających, z których najlepszym okazała się mieszanina n-butanol:etanol:amoniak:pirydyna:woda w stosunku objętościowych 6:3:2:6:6. Opracowane warunki posłużyły do uzyskania zhydrolizowanych form pozostałych barwników reaktywnych.

W kolejnym etapie badań zaproponowane warunki ekstrakcji barwników reaktywnych zastosowano do wydzielenia ich z 5 mm nitki bawełnianej. Uzyskane ekstrakty analizowano przy użyciu zoptymalizowanej metody HPLC-DAD. Identyfikacja barwników reaktywnych w ekstraktach była utrudniona z uwagi na liczne sygnały pochodzące z tła (inne związki obecne w barwnikach reaktywnych oraz generowane z nich w wyniku reakcji hydrolizy alkalicznej). Należy jednak podkreślić, iż zarejestrowane chromatogramy były na tyle różne, że mogą być cenną wskazówką podczas analizy porównawczej materiałów dowodowych zebranych w miejscu przestępstwa z materiałami porównawczymi, pobranymi np. z ubrania podejrzanego. Chromatogramy zarejestrowane dla ekstraktów uzyskanych z 5 mm nitki bawełnianej poddanych działaniu środków destrukcyjnych były równie bogate w sygnały, jak te zarejestrowane dla bawełny niepoddanej degradacji, stąd analiza jakościowa barwników była trudna do zrealizowania. Niemniej, charakterystyczny, odmienny zapis chromatograficzny dla każdej próbki może być źródłem informacji na temat materiału dowodowego.

W kolejnych etapach badań (makroskopowych, mikroskopowych oraz spektroskopowych w podczerwieni) zamierzano ustalić, jakie zmiany zachodzą w próbkach materiałów bawełnianej poddanych działaniu czynników chemicznych. Analizowany materiał stanowiły próbki tekstyliów oraz włókna bawełniane zdegradowane wybranymi środkami destrukcyjnymi. Stwierdzono, że największe zmiany w fizykochemicznej budowie bawełny spowodowało zastosowanie Domestosu. Środek ten odbarwił bawełnę, jej włókna stały się kruche, postrzępione, występowały w postaci krótkich fragmentów, jednak zachowany został pierwotny wygląd widoku wzdłużnego

tego włókna, tj. płaskiej wstążki o charakterystycznym skręcie. Zmiany w zakresie właściwości fluorescencyjnych zaobserwowano dla wszystkich włókien bawełnianych poddanych działaniu pozostałych środków, tj. DNA Away, Domestosu, Cidexu, Sterinoxu oraz Quatovetu.

Widma uzyskane za pomocą spektroskopii w podczerwieni z wykorzystaniem techniki ATR (ATR-FTIR) w większości przypadków miały przebieg zgodny z widmem niebarwionej, niepoddanej degradacji bawełny. Zastosowanie dwóch preparatów (Domestos, Quatovet) drastycznie zmieniło przebieg widm badanych próbek. Na podstawie analizy pasm absorpcji obecnych w widmach zdegradowanych tekstyliów zidentyfikowano czwartorzędowe sole amoniowe, wchodzące w skład obu środków.

Oceniając użyteczność zaproponowanego podejścia chromatograficznego do identyfikacji włókien bawełnianych poddanych działaniu czynników destrukcyjnych w odniesieniu do powszechnie stosowanych w tym celu badań makroskopowych, mikroskopowych i spektroskopowych należy stwierdzić, że analizy chromatograficzne przy użyciu HPLC-DAD mogą być cennym uzupełnieniem tego typu badań. Pomimo, że identyfikacja barwników reaktywnych w zdegradowanych nitkach jest utrudniona i nie zawsze możliwa do zrealizowania, przebiegi uzyskanych chromatogramów są na tyle odmienne i charakterystyczne, że mogą być użytecznym narzędziem różnicującym analizowane mikroślady tekstylne.

Badania włókien poliestrowych barwionych barwnikami dyspersyjnymi prowadzono analogicznie, jak w przypadku bawełny. W pierwszym etapie skupiono się na opracowaniu metod identyfikacji barwników dyspersyjnych przy wykorzystaniu technik chromatograficznych. Dla barwników tych opracowano i zwalidowano dwie metody HPLC-DAD oraz jedną metodę UPLC-QTOF-MS do identyfikacji tych samych włókien poliestrowych barwionych dziewięcioma dostępnymi na rynku barwnikami dyspersyjnymi. Przetestowano różne procedury izolacji barwników z pojedynczych włókien. Stwierdzono, że optymalne jest stosowanie chlorobenzenu w temperaturze 100°C przez 60 min. Dane walidacyjne oraz wyniki analizy nitki o długości 1 mm potwierdziły przydatność zaproponowanych metod do takich analiz. Zaproponowano, aby w sytuacji nakładania się sygnałów barwników dyspersyjnych z sygnałami pochodzącymi od innych związków obecnych w poliestrze, zastosować do ekstrakcji chlorek metylenu zamiast chlorobenzenu.

Następnie przeprowadzono analizę chromatograficzną niezdegradowanych i zdegradowanych włókien poliestrowych za pomocą opracowanych i zwalidowanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej metod HPLC-DAD i UPLC-QTOF-MS. Ekstrakcji poddawano nitki o długości 5 mm, 1 mm oraz pojedyncze włókna o długości 5 mm. Metoda UPLC-QTOF-MS w porównaniu do metod HPLC-DAD pozwoliła zidentyfikować większość barwników

dyspersyjnych w badanych próbkach. Ponadto technika ta okazała się bardziej czuła i oprócz czasu retencji poszczególnych barwników, ze względu na zastosowanie jako detektora spektrometru mas o wysokiej rozdzielczości, uzyskano również charakterystyczne wartości [m/z] barwników dyspersyjnych wyznaczone z dokładnością do 4. miejsca po przecinku.

Kolejne etapy stanowiły badania makroskopowe, mikroskopowe, spektroskopowe oraz chromatograficzne próbek materiałów i włókien poliestrowych zdegradowanych podanymi powyżej środkami destrukcyjnymi. Również w tym przypadku największe zmiany zaobserwowano pod wpływem działania Domestosu i Quatovetu. Domestos usztywnił i w niewielkim stopniu zmienił kolor materiałów poliestrowych. Próbki poddane działaniu Quatovetu nie wyschły w założonych warunkach. Wszelkie zmiany w obrębie budowy fizykochemicznej włókien zostały zobrazowane w trakcie badań przy użyciu mikroskopu badawczego i fluorescencyjnego, a dotyczyły one próbek poddanych działaniu środkom: Domestos, Cidex, Sterinnox i Quatovet.

Widma o przebiegu charakterystycznym dla poli(tereftalanu etylenu) (PET) otrzymano zarówno dla materiałów poliestrowych niepoddanych degradacji, jak i tych zdegradowanych. Dodatkowe pasma zaobserwowano w dwóch przypadkach po zadziałaniu na analizowane materiały Domestosem oraz Sterinnoxem.

Oceniając użyteczność zaproponowanego podejścia chromatograficznego (dwie metody HPLC-DAD i jedna metoda UPLC-QTOF-MS) do identyfikacji włókien poliestrowych poddanych działaniu czynników destrukcyjnych w odniesieniu do metod makroskopowych, mikroskopowych i spektroskopowych należy stwierdzić, że analizy chromatograficzne mogą być bardzo cennym uzupełnieniem badań kryminalistycznych tego typu materiałów dowodowych i porównawczych. Identyfikacja barwników dyspersyjnych w zdegradowanych włóknach i nitkach jest możliwa do zrealizowania, a uzyskanie chromatogramy na tyle odmienne i charakterystyczne, że mogą być użytecznym narzędziem różnicującym analizowane włókna i nitki poliestrowe.

Podsumowując należy podkreślić, iż analizowane materiały i włókna ulegały degradacji o różnym stopniu intensywności. Badania pokazały, że włókna poliestrowe są odporniejsze na działanie środków destrukcyjnych, aniżeli włókna bawełniane.

Metody chromatograficzne identyfikacji barwników tekstylnych mogą być istotnym dopełnieniem dla powszechnie wykorzystywanych w tym celu technik spektroskopowych.

**Słowa kluczowe:** włókna, barwniki reaktywne, barwniki dyspersyjne, analizy kryminalistyczne, metody chromatograficzne, metody spektroskopowe