

## MATERIÁLOVÝ PRŮZKUM ZLACENÍ NA STŘEDOVĚKÉM POLYCHROMOVANÉM RELIÉFU

ŠTĚPÁNKA HRDLIČKOVÁ KUČKOVÁ<sup>a</sup>, IRINA  
CRINA ANCA SANDU<sup>b</sup>, MICHAELA  
KŘÍŽKOVÁ CRHOVÁ<sup>a</sup>, LUCIE COUFALOVÁ<sup>a</sup>,  
IVA KŘÍŽOVÁ<sup>a</sup>, RADOVAN HYNEK<sup>a</sup>,  
SOLANGE VANHA MURALHA<sup>c</sup>, STEPHAN  
SCHAFER<sup>c</sup> a IGOR FOGAŠ<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-  
technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>b</sup> Hercules  
laboratory, University of Evora, Palacio do Vimioso, Lar-  
go Marques de Marialva no 8, 7000-809, Evora, Portugal,  
<sup>c</sup> Nova University of Lisbon, Research Unit VICARTE:  
Vidro e Cerâmica para as Artes, Faculty of Sciences and  
Technology, Lisbon, Portugal, <sup>d</sup> Moravská galerie v Brně,  
Husova 18, 662 26 Brno  
kuckovas@vscht.cz

Došlo 5.4.13, přepracováno 13.4.15, přijato 21.5.15.

Klíčová slova: zlacení, středověká polychromie, nábrusy,  
proteinová pojiva, hmotnostní spektrometrie, barvicí testy

### Úvod

Technika zlacení uměleckých děl je známa již z doby 4000–3100 let před n. l., ze které pochází kamenná váza nalezená v jižním Egyptě, na jejíž úchytech bylo prvně zaznamenáno použití fóliového zlacení<sup>1</sup>. Další způsob zlacení, a to pomocí plátkového zlata, rovněž pochází ze starého Egypta, kde bylo kolem roku 2500 př. n. l. použito k výzdobě hrobek v Sakkáře<sup>1</sup>. Avšak k největšímu rozvoji této umělecké techniky došlo až ve středověku v Evropě, odkdy se datuje rozvoj celé řady různých technik zlacení a s nimi spojený výběr materiálů. Používalo se například plátkové zlato, které se lišilo příměsemi dalších kovů (např. Ag, Cu)<sup>1</sup>, nebo náhražky zlata jako waschgold (barevná zlatá lazura na stříbrné nebo cínové fólii) a zwischgold (zlato tepané se stříbrem). Někdy dokonce „zlacení“ neobsahovalo zlato vůbec, ale byly aplikovány jiné, sice barevně podobné, ale méně cenné kovy a jejich slitiny (Cu, Sn, bronz, mosaz). Kromě kovové fólie se také používaly pomocné materiály, na které se zlacení nanášelo. V případě obrazů nebo polychromovaných soch se nejčastěji jedná o podkladové materiály, jako plavenou (CaCO<sub>3</sub>) či boloňskou (CaSO<sub>4</sub>) křidu a hlinky. Jako pojivo se zde nejběžněji používaly klišy, vaječný bílek, oleje či pryskyřice.

Zlacení se ale používalo i při povrchových úpravách kovových předmětů. Pravděpodobně kolem 3. století př. n. l. se v Číně začala pro zlacení kovů používat rtuť. Tuto speciální techniku zlacení kovů, ve které se rtuť používá jako lepidlo zlatých fólií zmiňuje ve své encyklopedii také Plinius Starší (1. století n. l.)<sup>2</sup>. V moderní literatuře je tato technika uváděna obvykle v opozici s amalgámovým zlacením, pro něž se zlato ve formě prášku nejprve smísí s kapalnou rtuť k získání amalgámu. Směs se poté aplikuje na kovový povrch a zahřívá na dostatečně vysokou teplotu (cca 400 °C), aby došlo k odstranění většiny rtuti odpařením<sup>3</sup>. Tato zdraví nebezpečná technika zlacení (tzv. zlacení v ohni) byla používána u kovů (stříbra a bronzu) až do 19. století, kdy byla nahrazena elektrolytickým zlacením.

Ve skutečnosti ale bylo zlacení na bázi elektrochemických pochodů (tzv. elektrochemické zlacení) objeveno dávno před elektrolytickým zlacením. Bylo prokázáno, že staré předkolumbovské jihoamerické civilizace (např. Vicus (300 př. n. l. – 500 n. l.) a Mochica (100 př. n. l. – 850 n. l.))<sup>4</sup> využívaly pro pozlacování rozdílný elektrochemický potenciál mezi zlatem a mědí při vložení měděných šperků a rituálních předmětů do roztoků obsahujících soli zlata<sup>1</sup>. Tato metoda bezproudového zlacení se stále používá v elektronickém průmyslu. Mimo této techniky se ale v současné době používá v průmyslových odvětvích zejména galvanické zlacení nebo zlacení napařováním.

Určení anorganických materiálů v uměleckých objektech je klíčové pro zvolení vhodného postupu restaurování, ale může také posloužit i jako nástroj pro zjištění autorství uměleckých děl<sup>5–7</sup>. Anorganické složky jsou dnes určovány především pomocí řádkovacího elektronového mikroskopu spojeného s energiově-disperzním analyzátozem (SEM-EDX)<sup>8,9</sup>, Ramanovou spektroskopií<sup>8</sup> nebo rentgenovou fluorescenční spektroskopií (XRF)<sup>10</sup>. Další nezastupitelnou metodou je rentgenová difrakce (XRD)<sup>11</sup>, a to zejména její obdoba, rentgenová mikrodifrakce<sup>12</sup>. Tyto metody jsou užitečné při materiálovém průzkumu barevných vrstev vzorků připravených do podoby nábrusů, kdy se v jednotlivých vrstvách mohou rozlišit anorganické materiály různé přírodní proveniencie a odhalit i jejich degradační produkty.

Na rozdíl od dnes velmi dobře zvládnuté identifikace anorganických materiálů, představuje však identifikace organických pojiv a zmapování jejich výskytu v uměleckých dílech dosud značnou výzvu pro analytické chemiky. Tento výzkum je komplikován mnohovrstevnou strukturou vzorku a možností analýzy jen velmi malého množství vzorku získaného ze studovaného uměleckého objektu. Konkrétně identifikace bílkovinných pojiv v uměleckých dílech je stále velmi obtížná, a to i přes možnost využívání pokročilých analytických metod, jakými jsou například plynová (GC-MS) nebo kapalinová (LC-MS/MS) chromatografie, hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF<sup>13–19</sup>, spektrofluorimetrické<sup>20,21</sup> a spektroskopické<sup>22</sup> techniky, imunochemické metody, ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), imunofluorescenční mikroskopie, nanoSERS (nano-Surface and Tip enhanced Raman scattering) či chemiluminiscence<sup>23–27</sup>. V ojedinělých případech, kdy

byly některé tyto techniky použity přímo na nábrusech<sup>25,27</sup>, bylo možné lokalizovat proteiny v jednotlivých vrstvách vzorku a současně zmapovat různé proteinové materiály ve stejné vrstvě. Všechny výše uvedené metody umožňují identifikovat a rozlišit alespoň vaječné, klišové (kolagenní) a mléčné bílkoviny. Významný potenciál pro analýzu fragmentů uměleckých děl zalitých pryskyřicí a následně zbroušených do formy nábrusu má také mikrospektrofluorometrie, která umožňuje dokonce rozlišit mezi různými zdroji bílkovin (vaječným bílkem, žloutkem a klišem) v barevných vrstvách ve spojení se speciálním fluorescenčním barvivem Sypro Ruby<sup>20</sup>.

Tato práce navrhuje inovativní protokol využívající hmotnostní spektrometrii MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight Mass Spectrometry), řádkovací elektronovou mikroskopii SEM-EDX (Scanning Electron Microscope coupled to Energy Dispersive X-ray spectroscopy) a barvicí test Sypro Ruby pro simultánní identifikaci a mapování proteinových pojiv. Navrhovaný protokol byl použit pro zjištění materiálového složení zlacení, tj. pro identifikaci anorganických pigmentů a lokalizaci proteinových pojiv přímo na nábrusech pocházejících ze středověké polychromované plastiky „Oplakávání Ježíše Krista“ (obr. 1). Tato dřevorežba vytvořená neznámým autorem, která je datována do období kolem roku 1510, představuje jeden ze vzácně zachovalých pozdně gotických reliéfů Oplakávání Krista a zároveň je jedním z nejvýznamnějších polychromovaných figurálních řezbářských děl na našem území<sup>28,29</sup>. Existují jasné indicie, že tento polychromovaný reliéf vznikl podle dřevorytu Albrechta Dürera s názvem „Oplakávání Ježíše Krista“ z roku 1497–1498 (obr. 1). Právě materiálový průzkum, který mohl pomoci s autentifikací díla, zahrnoval poznání mimofádně složitě

výstavby mnohokrátě opravované polychromie a použitých malířských technik. Bylo tak nutné provést identifikaci použitých pigmentů a pro určení techniky malby i určení a lokalizaci organických pojiv. Přestože jsou pojiva v barevných vrstvách (kombinace pigmentu či barviva a dále organického pojiva) zastoupena pouze minoritně, zodpovídají za jejich kvalitu. Jejich hodnověrná identifikace je proto velmi důležitá, a to z hlediska posouzení původní techniky malby, druhotných přemaléb, návrhu postupu restaurování nebo upřesnění historie díla.

## Experimentální část

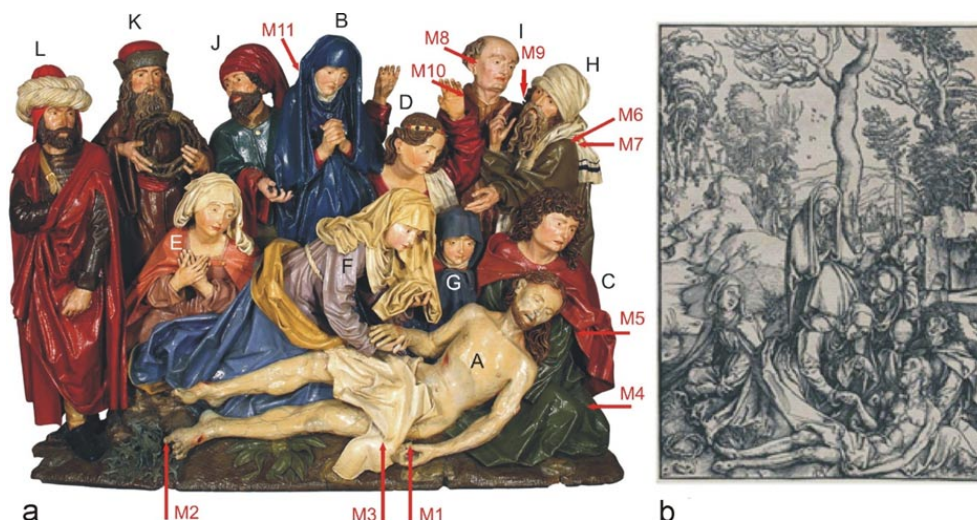
### Popis polychromovaného reliéfu

Z figurální polychromované dřevorežby s motivem „Oplakávání Ježíše Krista“, která je ve vlastnictví kláštera Minoritů v Brně (obr. 1) bylo odebráno 12 vzorků (M1, M1a až M11), ze kterých byly připraveny nábrusy<sup>30</sup>. Polychromovaný reliéf o rozměrech 97 cm × 136 cm × 29 cm, který pochází přibližně z roku 1510, představuje 12 soch mužů a žen a je složený ze čtyř bloků lipového dřeva s několika řezbářskými doplňky. Na obr. 1a je vyobrazena celá plastika s označením jednotlivých postav: A – Ježíš Kristus, B – Sv. Anna, C – Jan Křtitel, D – Marie Magdalena, E – Marie Kleofášova, F – Panna Marie, G – Marie Salome, H – Josef z Arimatie, I – Nikodém, J – člen synedria, K – farizej (Šimon z Kyrény), L – člen synedria.

### Materiál a příprava vzorků

#### Nábrusy a barvicí testy

Některé vzorky byly zality do polyesterové pryskyřice a po zatvrdnutí upraveny do leštěných nábrusů. Na nich



Obr. 1. a – Reliéf „Oplakávání Ježíše Krista“ s vyznačením odběru 12 zkoumaných vzorků. (I. Fogaš, 2011), b – Dřevoryt „Oplakávání Ježíše Krista“ od A. Dürera

byly pro zmapování proteinových pojiiv provedeny barvicí testy pomocí fluorescenčního barviva Sypro Ruby<sup>30</sup>. Vzor-ky byly zkoumány zobrazovacím binokulárním mikrosko-pem Axioplan Zeiss 2 se zvětšením (50× až 500×) a vyfotografovány digitálním fotoaparátem Nikon DXM1200F. Pro pozorování fluorescence byly použity fluorescenční filtry 8 (G 365, FT 395 a LP 420) a filtr 6 (BP 450-490, FT 510 a LP 515).

#### Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF

Nezalité fragmenty vzorků o hmotnosti 5–50 mg byly ponořeny do 20  $\mu$ l roztoku trypsinu (1  $\mu$ l trypsinu o koncentraci 1  $\mu$ g/ $\mu$ l v 50  $\mu$ l 50mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), aby se rozštěpily přítomné proteiny. Štěpení probíhalo při labora-torní teplotě po dobu 2 h a vzniklé peptidové směsi byly přečištěny a zkoncentrovány na reverzní fázi C18 (ZipTip).

Nábrusy byly vloženy a následně uzavřeny do Petriho misky, ve které byly po stranách umístěny vlhké kousky buničiny, aby se zamezilo vysychání štěpícího roztoku (5 až 10  $\mu$ l) umístěného na povrchu nábrusu<sup>30</sup>. Po dvou hodi-nách štěpení byl roztok z povrchu odebrán a jako v případě analýzy nezalitých fragmentů byl purifikován a zakoncen-trován na reverzní fázi C18.

Hmotnostní spektra byla získána na hmotnostním spektrometru Bruker-Daltonics Biflex IV MALDI-TOF, který je vybaven dusíkovým laserem (337 nm) v reflekt-rovém modu. Než byly vzorky nanášeny na ocelovou vzor-kovací destičku, byly 2,4  $\mu$ l naštěpeného vzorku smíchány s 5,0  $\mu$ l roztoku kyseliny 2,5-dihydroxybenzoové (DHB) (8,0 mg DHB bylo rozpuštěno v 0,5 ml roztoku obsahujícím 30 % acetonitrilu a 0,1 % kyseliny trifluoroctové). Následně byly vzorky na destičku nanášeny v objemu 2,2  $\mu$ l, a to vždy na dva spoty, a ponechány vykrytalizovat.

Každé spektrum vzniklo nasbíráním alespoň 200 laserových pulsů a následně bylo vyhodnoceno soft-warem Bruker Flex III a Bruker XToF. Přístroj byl pro každé měření externě kalibrován peptidovou směsí MhPepmix (2,0  $\mu$ l Mh Pepmix/4,0  $\mu$ l DHB). Změřená spektra obsahující píky v intervalu 900–2000 Da byla vy-hodnocena programem mMass<sup>31</sup> a naší vlastní referenční databází proteinových pojiiv<sup>32</sup> s přesností přiřazení hmot-ností peptidových štěpů 0,4 Da.

#### Řádkovací elektronový mikroskop s energiově-disperzním analyzátoem (SEM-EDX)

Pro zjištění prvkového složení anorganických pig-mentů obsažených v barevných vrstvách nábrusů byl pou-žit skenovací elektronový mikroskop VEGA II LSH (TESCAN) spojený s energiově-disperzním analyzátoem QUANTAX QX2 (Bruker). Energiově disperzní analyzáto Quantax QX2 využíval detektor třetí generace Xflash, který nepotřebuje chlazení kapalným dusíkem a je 10× rychlejší než klasický detektor Si(Li). Analýzy byly prove-deny za následujících podmínek: napětí 20 a 30 kV; 1·10<sup>-3</sup>

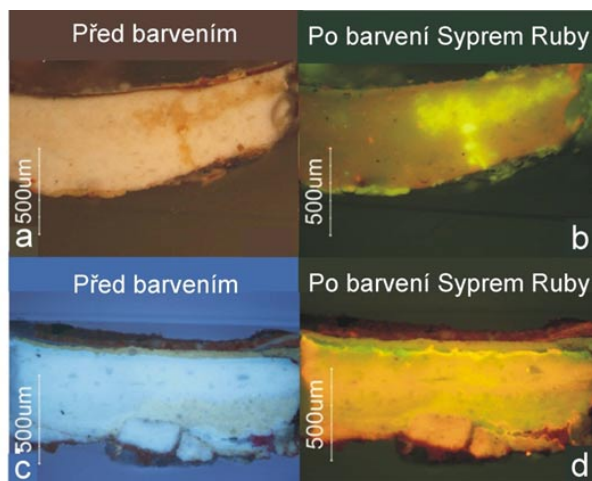
Pa; pracovní vzdálenost 11–20 mm (16,6 mm pro EDX) a se zvětšením 78× až 1000×. Nábrusy byly pro měření pokryty tenkou vrstvou grafitu.

#### Výsledky a diskuse

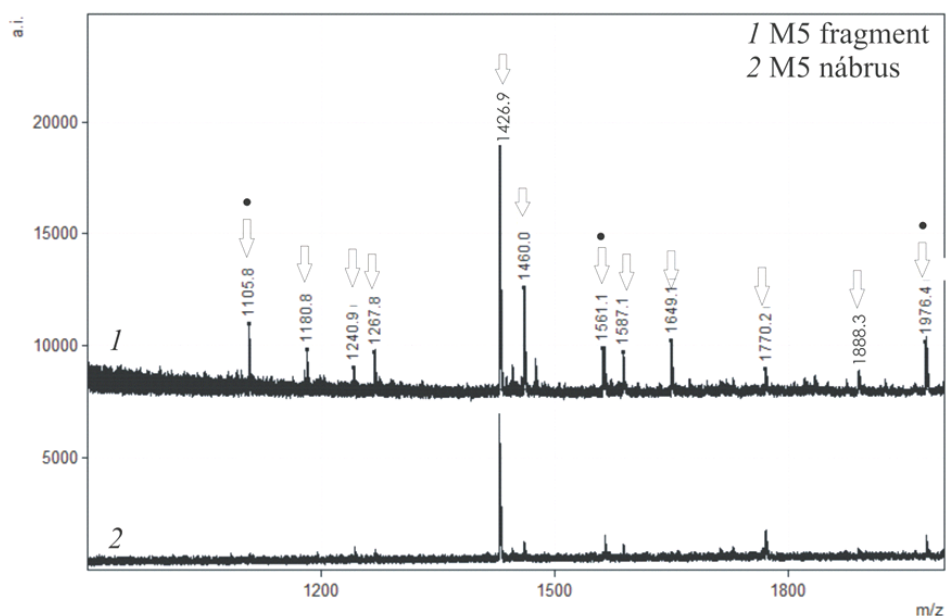
Pozorování nábrusů pod viditelným a fluorescen-čním světlem ukázalo jejich odlišnou strukturu a počty vrstev v závislosti na místě odběru vzorků. U inkarnátů, např. vzorku M2, který byl odebrán z palce u nohy Ježíše Krista, se jednalo o dvě vrstvy (obr. 2a,b), zatímco u jiných odběrových lokalit se obvykle jednalo o pět či šest barevných vrstev, stejně jako u vzorku M5 (obr. 2c,d) odebraného z lemu pláště Jana Křtitele, a vzorku M10 odebraného z místa blízko spodního pravého lemu Nikodé-mova šatu (obr. 3). V těchto místech byly v minulosti pravděpodobně provedeny přemalby, které byly během restaurování odstraněny.

Přítomnost bílkovinných pojiiv v barevných vrstvách bylo možné detegovat prostřednictvím jejich charakteris-tické šedomodré autofluorescence pod UV zářením<sup>19</sup>, ale k jejich přesnější identifikaci a distribuci bylo dále použito barvivo Sypro Ruby. Jak je patrné z obr. 2, nábrus získaný ze vzorku M2 vykazuje po aplikaci fluorescenčního barvi-va změnu zabarvení typickou pro pozitivní detekci bílko-vin. Pod mikroskopem je toto zabarvení jasně oranžové, ale v černobílém provedení obrázků se jedná pouze o ze-světlení silné spodní bílé vrstvy. U vzorku M5 je zesvětlená hlavně bílá vrstva s velmi jasným horním okrajem a tmavá vrstva nad zlacením.

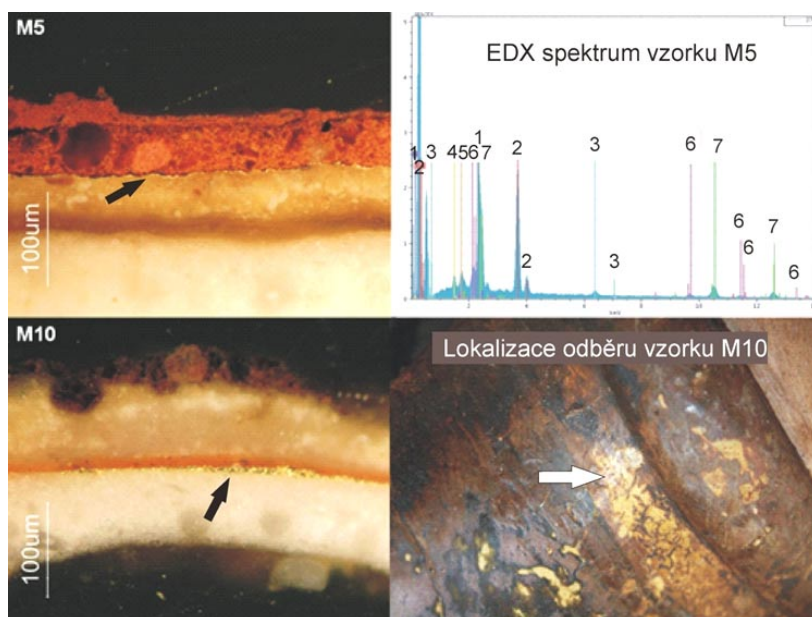
Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF byla apliko-vána na vzorky M5 a M10, a to jak na nábrusy, tak i na nezalité fragmenty. Z hmotnostních spekter získaných z obou typů vzorků pro M5 (obr. 3.) je možné identifikovat přítomné bílkovinnové pojiivo, přestože spektrum pochá-



Obr. 2. Lokalizace proteinových pojiiv pomocí sledování fluores-cence před barvením a po barvení Syprem Ruby ve vzor-cích M2 (a, b) a M5 (c, d). (I. C. A. Sandu, 2011)



Obr. 3. Srovnání hmotnostních spekter získaných z fragmentu (1) a nábrusu vzorku M5 (2). Šipkami jsou označeny kolagenní a kolečky vaječné proteiny



Obr. 4. Detaily nábrusů vzorků M5 a M10 obsahující zlatení (označené šipkou), EDX spektrum zlaté fólie ve vzorku M5 a lokalizace odběru vzorku M10. Označení prvků v EDX spektru: 1 – S, 2 – Ca, 3 – Fe, 4 – Al, 5 – Si, 6 – Au, 7 – Pb

zející z nezalitého fragmentu poskytuje intenzivnější a tudíž i lépe odečitatelné píky, resp. hodnoty  $m/z$ . U obou vzorků M5 a M10 bylo zjištěno kolagenní pojivo (klich, želatina), ale nebyla zcela vyloučená ani přítomnost vaječných proteinů, které ale nelze spolehlivě prokázat, jelikož

jejich peptidy zde vykazují stejné hodnoty  $m/z$  jako peptidy kolagenního pojiva.

Pozůstatky zlatení, které bylo dle restaurátorského průzkumu použito na většinu postav středověkého reliéfu, byly nalezeny i ve vzorcích M5 a M10 (obr. 4). U obou

vzorků se tloušťka zlaté vrstvy pohybovala v rozmezí 5 až 8  $\mu\text{m}$ . Ve vzorku M5 byla pod zlacením metodou SEM-EDX identifikována tenká vrstva bolusového podkladu ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{SiO}_2$ ) a dále vrstva plavené křídly a olovnaté běloby ( $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$ ). U vzorku M10 byla zlatá fólie aplikována přímo na bílý podklad (plavenou křidu ( $\text{CaCO}_3$ )). Distribuční diagram prvků ukázal u vzorku M5 nad zlatým plátkem vrstvu obsahující rtuť a síru (rumělkou,  $\text{HgS}$ ) s malou příměsí olova (snad příměs  $\text{PbS}$  či minia –  $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ), a nad ní dále tenkou vrstvu obsahující železo (pravděpodobně jeho oxidy, červený okr).

## Závěr

Tato práce předkládá novou, jednoduchou a relativně rychlou možnost identifikace a lokalizace organických pojiv ve vzorcích dřevěné polychromie z počátku 16. století s názvem „Oplakávání Ježíše Krista“ za použití hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF a barvicího testu Sypro Rubu. Ve vzorcích byla jednoznačně identifikována přítomnost kolagenního pojiva (klihu nebo želatiny) a bylo také zjištěno, že kvalitní hmotnostní spektra lze získat jak z nezalitých fragmentů odebraných vzorků, tak i z jejich nábrusů. Nábrusy navíc mohou být po proběhlých analýzách archivovány pro pozdější využití.

Metoda SEM-EDX potvrdila ve vybraných vzorcích přítomnost zlaté fólie a běžně používaných pigmentů, jako plavené křídly ( $\text{CaCO}_3$ ), olovnaté běloby ( $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$ ), bolusu ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{SiO}_2$ ) a ve svrchní barevné vrstvě rumělkou ( $\text{HgS}$ ) a okr (hlínku s příměsí oxidů železa). Zjištění těchto běžně používaných materiálů ve zkoumané středověké polychromii „Oplakávání Ježíše Krista“ nepřispělo k určení autorství vzácného reliéfu ani ke zjištění, zda zlaté vrstvy jsou původní či druhotné. V každém případě však přináší konkrétní informace o původních materiálech a technikách, které mohou být v budoucnu základem pro další výzkum, a úspěšně podpořilo náročnou restaurátorskou realizaci.

*Financováno z účelové podpory na specifický vysokškolský výzkum (MŠMT č.20/2015) a projektu GILT-Teller (č. PTDC/EAT/116700/2010, FCT-Portugal).*

## LITERATURA

- Darque-Ceretti E., Felder E., Aucouturier M.: *Revista Matéria* 16, 540 (2011).
- Rackham H., Jones W. H. S., Eichholz D. E.: *Pliny's natural history*. Harvard University Press, Londýn 1949-54.
- Oddy W. A.: *Gold Bulletin* 14, 75 (1981).
- Lechtman H.: *Scientific American* 250, 38 (1984).
- Sandu I. C. A., Roque A. C., Kuckova S., Schaefer S., Carreira R.: *ECR - Estudos de Conservação e Restauro*. 1, 39 (2009).
- Sandu I. C. A., Luca C., Sandu I., Vasilache V., Hayaishi M.: *Rev. Chim. (Bucharest, Rom.)* 59, 384 (2008).
- Sandu I. C. A., Luca C., Sandu I., Vasilache V., Hayaishi M.: *Rev. Chim. (Bucharest, Rom.)* 59, 785 (2008).
- Rodriguez A., Eremin K., Khandekar N., Stenger J., Newman R., Bazeta F., Escototado M. T.: *J. Raman Spectrosc.* 41, 1517 (2010).
- Vila A., Ferrer N., Garcia J. F.: *Anal. Chim. Acta.* 588, 96 (2007).
- Rosi F., Miliani C., Clementi C., Kahrim K., Presciutti F., Vagnini M., Manuali V., Daveri A., Cartechini L., Brunetti B. G., Sgamellotti A.: *Appl. Phys. A* 100, 613 (2010).
- Prati S., Joseph E., Sciutto G., Mazzeo R.: *Acc. Chem. Res.* 43, 792 (2010).
- Šimová V., Bezdička P., Hradilová J., Hradil D., Grygar T.: *Powder Diffr.* 20, 224 (2005).
- Lluveras A., Bonaduce I., Andreotti A., Colombini M. P.: *Anal. Chem.* 82, 376 (2010).
- Valianou L., Wei S., Mubarak M. S., Farmakalidis H., Rosenberg E., Stassinopoulos S., Karapanagiotis I.: *J. Archaeol. Sci.* 38, 246 (2011).
- Kuckova S., Hynek R., Kodicek M.: *J. Cult. Herit.* 10, 244 (2009).
- Fremout W., Kuckova S., Crhova M., Sanyova J., Saverwyns S., Hynek R., Kodicek M., Vandenaabeele P., Moens L.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25, 1631 (2011).
- Fremout W., Dhaenens M., Saverwyns S., Sanyova J., Vandenaabeele P., Deforce D., Moens L.: *Anal. Chim. Acta* 658, 156 (2010).
- Doménech-Carbó M. T.: *Anal. Chim. Acta* 621, 109 (2008).
- Pinna D., Galleotti M., Mazzeo R.: *Scientific Examination for the Investigation of Paintings: A Handbook for Conservators-restorers*. Centro di Florence (2009).
- Sandu I. C. A., Roque A. C. A., Matteini P., Schäfer S., Agati G., Correia C. R., Viana J. F. F. P.: *Microsc. Res. Tech.* 75, 316 (2012).
- Matteini P., Camaiti M., Agati G., Baldo M.-A., Muto S., Matteini M.: *J. Cult. Herit.* 10, 198 (2009).
- Nevin A., Comelli D., Valentini G., Anglos D., Burnstock A., Cather S., Cubeddu R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 1897 (2007).
- Cartechini L., Vagnini M., Palmieri M., Pitzurra L., Mello T., Mazurek J., Chiari G.: *Acc. Chem. Res.* 43, 867 (2010).
- Arslanoglu J., Zaleski S., Loike J.: *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 2997 (2011).
- Sciutto G., Dolci L. S., Buragina A., Prati S., Guardigli M., Mazzeo R., Roda A.: *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 2889 (2011).
- Heginbotham A., Millay V., Quick M.: *J. Am. Inst. Conserv.* 45, 89 (2006).
- Dolci L. S., Sciutto G., Guardigli M., Rizzoli M., Prati S., Mazzeo R., Roda A.: *Anal. Bioanal. Chem.* 392, 29 (2008).
- Fogaš I., Hlobil I.: *Oplakávání od brněnských minorit*

- tů: restaurování a interpretace. Umění/Art LX, No. 5 (2012).
29. Fogaš I., Kaliopi Ch.: Oplakávání od brněnských minoritů. *Zprávy památkové péče* 16/2014, 6 (2014).
  30. Kuckova S., Sandu I. C. A., Crhova M., Hynek R., Fogas I., Schafer S.: *J. Cult. Herit.* 14, 31 (2012).
  31. Strohm M., Hassman M., Kosata B., Kodíček M.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22, 905 (2008).
  32. Kuckova S., Nemeč I., Hynek R., Hradilova J., Grygar T.: *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 275 (2005).

**Š. Hrdličková Kučková<sup>a</sup>, I. C. A. Sandu<sup>b</sup>, M. Křížková Crhová<sup>a</sup>, L. Coufalová<sup>a</sup>, I. Křížová<sup>a</sup>, R. Hynek<sup>a</sup>, V. S. Muralha<sup>c</sup>, S. Schafer<sup>c</sup>, and I. Fogaš<sup>d</sup>**  
(<sup>a</sup>Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology in Prague, Czech Republic, <sup>b</sup>REQUIMTE, FCT-UNL at Hercules laboratory, University of Evora, Palácio do Vimioso, Largo Marques de Marialva no 8, 7000-809, Evora, Portugal, <sup>c</sup>Nova Uni-

versity of Lisbon, Research Unit VICARTE: Vidro e Cerâmica para as Artes, Faculty of Sciences and Technology, Lisbon, Portugal, <sup>d</sup>Moravian Gallery in Brno, Brno, Czech Republic): **Material Research of Gilding on Medieval Polychrome Sculpture**

This paper proposes an innovative protocol using MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight Mass Spectrometry), SEMEDX (Scanning Electron Microscope coupled to Energy Dispersive X-ray spectroscopy), and fluorescence test Sypro Ruby for simultaneous identification and mapping of protein binders in the ground and adhesive under-layer of the gildings on polished cross-sections. The proposed protocol was used to identify gold foils, inorganic pigments and for localization protein binders on the samples derived from the polychrome sculpture „Mourning of Jesus Christ“ from the early 16th century, whose pattern was the woodcut made by Albrecht Dürer.