

Metody stosowane w badaniach kryminalistycznych do identyfikacji włókien bawełny barwionej barwnikami reaktywnymi

podinsp. dr Daria Śmigiel-Kamińska
Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji,
Uniwersytet Gdański
ORCID 0000-0002-4460-1815
e-mail: daria.smigiel-kaminska@policja.gov.pl

prof. dr hab. Jolanta Kumirska
Uniwersytet Gdański
ORCID 0000-0003-1211-1114

prof. dr hab. Jolanta Wąs-Gubała
Instytut Ekspertyz Sądowych im. Jana Sehna w Krakowie
ORCID 0000-0001-5812-6798

mł. insp. dr Katarzyna Razarenkow
Komenda Główna Policji
ORCID 0000-0001-9499-9107

Streszczenie

Duża skala produkcji wyrobów bawełnianych, ich szerokie zastosowanie, jak również określone właściwości fizykochemiczne powodują, iż naturalne włókna bawełniane prawie zawsze występują wśród mikrośladów fizykochemicznych zabezpieczanych na miejscach zdarzeń przestępczych.

Właściwy dobór metod ujawniania i zabezpieczania mikrośladów w postaci włókien, a następnie odpowiednia metodyka badawcza i poprawna interpretacja uzyskanego wyniku dostarczają istotnych i wiarygodnych informacji o zaistniałym zdarzeniu przestępczym (Houck i in., 2009; Śmigiel-Kamińska i in., 2019; Śmigiel-Kamińska i in., 2020; Wąs-Gubała, 2000; Wąs-Gubała, 2009; Zięba-Palus i in., 2015).

Analityka badawcza stanowiąca narzędzie do identyfikacji i porównania włókien w pierwszej kolejności opiera się na wynikach uzyskanych z wykorzystaniem różnych technik mikroskopii optycznej, a następnie mikrospektrofotometrii w zakresie UV-Vis. Oznaczanie składu chemicznego materiałów włókienniczych prowadzone jest głównie z wykorzystaniem spektroskopii w podczerwieni i spektroskopii Ramana, ale również wysokosprawnej chromatografii cieczowej, spektrometrii mas, chromatografii gazowej oraz licznych wariantów kombinacji powyższych technik.

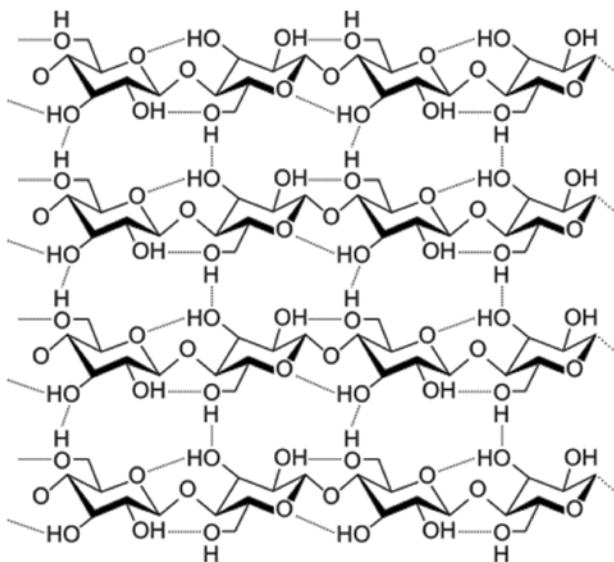
W niniejszym artykule dokonano przeglądu opublikowanych dotychczas wyników badań w zakresie identyfikacji i porównania barwników zastosowanych do wybarwienia bawełny, w szczególności tych należących do grupy reaktywnych, z wykorzystaniem metod spektroskopowych i chromatograficznych.

Słowa kluczowe: bawełna, barwniki reaktywne, analizy kryminalistyczne, metody chromatograficzne, metody spektroskopowe

1. Charakterystyka bawełny jako włókna naturalnego

Włókna bawełniane, należące do typu włókien naturalnych, powstają na skutek rozwoju komórek łupiny nasiennej bawełnicy (bawełny) – rośliny z rodziny ślazowatych. Bawełna jest bardzo wydajną rośliną, ponieważ podczas obróbki traci jedynie 10% masy. Podstawowym elementem budulcowym włókien bawełny jest celuloza, która stanowi co najmniej 86%. Ponadto znajdują się tam również niewielkie ilości substancji dodatkowych tj. woda, białka, woski, czy minerały (Houk i in., 2009).

Celuloza należy do polisacharydów o nierozgałęzionej strukturze, a jej monomerem jest D-glukoza. D-glukoza zawiera sześciocząłkowy pierścień piranowy, budową podobny do heterocyklicznego piranu o konformacji krzesłkowej. Łańcuch celulozowy składa się z 800 do 10 000 reszt glukozydowych połączonych ze sobą wiązaniem β -1,4-glikozydowym (Korszak, 1957; Lucia i in., 2018; Morisson, Boyd, 1985; Qiu, Hu, 2013). Fragment takiego łańcucha przedstawiono na rycinie 1. W strukturze celulozy bardzo duże znaczenie odgrywa obecność wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, które są trudne do rozerwania, co skutkuje nierozpuszczalnością celulozy w wodzie. Grupy hydroksylowe obecne w cząsteczce celulozy sprawiają, iż posiada ona właściwości higroskopijne, a więc absorbuje wodę z otoczenia (Hatakeyama, 2004; Qiu, Hu, 2013; Ross i in., 1991; Zugenmaier, 2008).



Ryc. 1. Fragment łańcucha celulozy (Dey, 2021)

Włókno bawełniane składa się z 20-30 warstw celulozy, budowa uwarunkowana jest jego dojrzałością. Włókno bawełniane rośnie wzdłuż do 30 dni osiągając długość do 30 mm, natomiast ścianka włókna przyrasta w drugim etapie, trwającym kolejne 35-40 dni, osiągając grubości 6–7 μm . Opisane cechy oraz dojrzałość włókien bawełny w dużym stopniu zależą od czynników

zewnętrznych, takich jak temperatura, wilgotność, czy nasłonecznienie (Jeziorny, Lipp-Symonowicz, 1980).

Wspomniany wyżej stopień dojrzałości włókien bawełny decyduje o ich kształcie. Włókno w początkowym etapie przypomina płaską wstążkę, a w przekroju poprzecznym ma kształt fasolki o pustym kanale. W kolejnych etapach dojrzewania włókno zyskuje coraz większą liczbę skrętów. Skręty te zanikają, gdy włókno jest zbyt dojrzałe. Ukształtowane włókno ma kształt cylindryczny, a jego przekrój poprzeczny jest bardzo zbliżony do kołowego (Jeziorny, Lipp-Symonowicz, 1980).

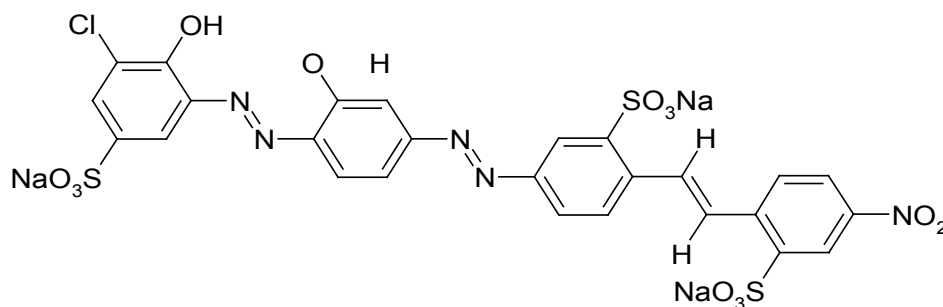
Właściwości fizyczne i chemiczne włókna bawełny wynikają z właściwości celulozy. W związku z tym bawełna charakteryzuje się znaczną odpornością na działania czynników mechanicznych, takich jak rozciąganie i rozrywanie, aczkolwiek wykazuje małą sprężystość. Bawełna poddana działaniu alkaliów nie ulega rozpuszczeniu, jednakże pęcznieje. Rozpuszczalniki organiczne również nie powodują rozpuszczenia włókna bawełnianego. Natomiast jest ono wrażliwe na działanie stężonych kwasów, takich jak kwas siarkowy (VI) (H_2SO_4), chlorowódor (HCl). Pod wpływem wspomnianych kwasów włókno bawełniane ulega zniszczeniu, co spowodowane jest degradacją celulozy (Śmigiel-Kamińska i in., 2014).

2. Barwniki wykorzystywane do barwienia bawełny

W celu zabarwienia włókien celulozowych, jakimi są włókna bawełniane wykorzystuje się kilka klas barwników: bezpośrednie, kadziowe, siarkowe i reaktywne (Broadbent, 2001).

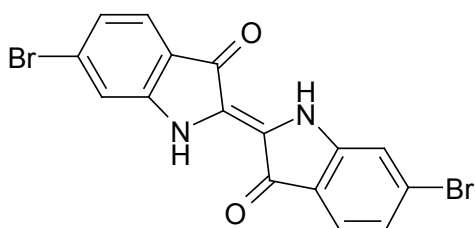
Barwniki bezpośrednie to barwniki, które wykazują powinowactwo do włókien bez użycia środka wiążącego nazywanego zaprawą (Önder, 2010). Barwniki bezpośrednie całkowicie rozpuszczają się w wodzie, za co odpowiadają obecne w strukturze barwników grupy sulfonianowe ($-\text{SO}_3^-$) nadające im charakter hydrofilowy (Christie, 2015). Proces barwienia przebiega w temperaturze zbliżonej do temperatury wrzenia wody oraz w obecności elektrolitu (np. chlorku lub siarczanu sodu). W takich warunkach barwniki wykazują powinowactwo do cząstek celulozy przez wiązania wodorowe, siły van der Waalsa oraz oddziaływania typu dipol-dipol (Christie, 2015). Na rycinie nr 2 przedstawiono strukturę przykładowego barwnika bezpośredniego.

Kolejną grupą barwników są nierozpuszczalne w wodzie barwniki kadziowe (Önder, 2010). Przeprowadzenie procesu powszechnie zwanego vatting z dodatkiem ditioninu sodu w warunkach bardzo wysokiego pH pozwala uzyskać postać barwników, które są rozpuszczalne w wodzie (Shore, 2002). W tej postaci barwniki kadziowe wykazują bardzo duże powinowactwo do włókien celulozowych i są przez nie wchłaniane. Na koniec są one ponownie przekształcane w formę nierozpuszczalną w wodzie, przez co barwniki te zostają w sposób



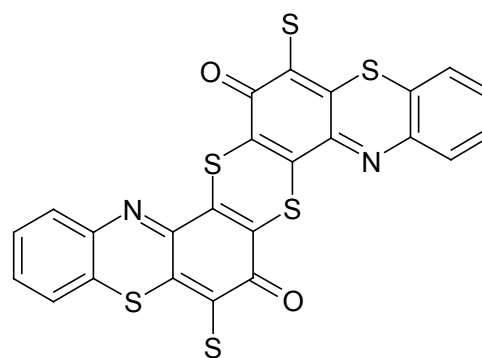
Ryc. 2. Struktura barwnika bezpośredniego-Direct Brown 103 (źródło własne)

mechaniczny uwięzione w obrębie włókna. Wszystkie etapy barwienia sprawiają, że materiał tekstylny wybarwiony tym sposobem wykazuje odporność na wilgoć, a w trakcie prania nie traci koloru (Önder, 2010). Charakterystycznym elementem budowy chemicznej barwników kadziowych są dwie grupy karbonylowe połączone układem sprzężonym. Bez tego ugrupowania nie byłyby możliwe procesy zachodzące w trakcie barwienia bawełny. Grupy karbonylowe ($-C=O$) ulegają redukcji do grup enolowych (w warunkach alkalicznych). Ugrupowania te odpowiadają za zdolność do rozpuszczania się w wodzie barwników kadziowych. Do barwników kadziowych należą niezwykle popularne barwniki koloru niebieskiego z grupy Indygo (Christie, 2015). Strukturę przykładowego barwnika kadziowego przedstawiono na rycinie nr 3.



Ryc. 3. Struktura barwnika kadziowego – Dibromoindygo (źródło własne)

Barwniki siarkowe są rodzajem barwników kadziowych używanych do barwienia włókien celulozowych. Struktury chemiczne barwników siarkowych nie są do końca poznane, wiadomo jednak, że stanowią je mieszaniny cząstek chemicznych zawierające różnorakie struktury z siarką: grupy siarczkowe, disiarczkowe, polisiiarczkowe oraz pierścienie heterocykliczne. Proces barwienia produktów włókienniczych polega na przekształceniu barwnika przez przeprowadzenie redukcji z wykorzystaniem siarczku sodu. Otrzymany związek staje się rozpuszczalny w wodzie i w wyniku dyfuzji dostaje się do wnętrza włókna. W ostatnim etapie barwnik jest utleniany do postaci hydrofobowej (Christie, 2015; Önder, 2010). Barwniki siarkowe są bardzo tanie, jednak mają bardzo negatywny wpływ na środowisko naturalne. Strukturę przykładowego barwnika siarkowego przedstawiono na rycinie nr 4.



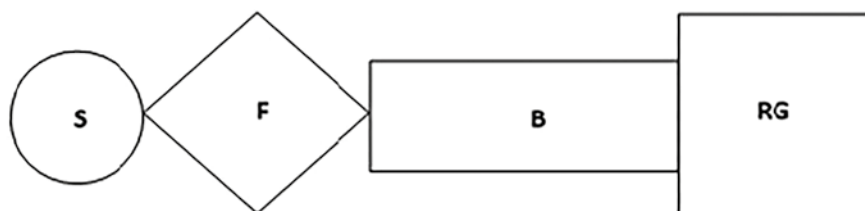
Ryc. 4. Przykładowy barwnik siarkowy-Sulfur Black I (źródło własne)

Barwniki reaktywne są najczęściej wykorzystywaną, nowoczesną grupą barwników syntetycznych do barwienia tekstyliów bawełnianych. Charakteryzują się one doskonałą trwałością, dużą gamą odcieni oraz elastycznością użycia. Ich nazwa bierze się z faktu, posiadania w cząsteczce grup reaktywnych powstałych podczas kilkuetapowej syntezy (Christie, 2015).

Barwniki reaktywne zbudowane są z różnych fragmentów, co zaprezentowano na rycinie nr 5 i rycinie nr 6, przy czym każdy z tych fragmentów spełnia jasno określoną rolę (Blaus, 2014; Chakraborty, 2010; Chatopadhyay, 2011; Hoy, 2013; Lewis, 2011; Mahapatra, 2016; Shang, 2013; Wiggings, 2017; Zollinger, 2003). Grupami tymi są: chromogen, grupa nadająca cząsteczce właściwości rozpuszczalności w wodzie, grupa mostkująca oraz grupa reagująca z włóknami.

Chromogen jest częścią cząsteczki, która nadaje kolor i może przyczyniać się do nadania jej różnych właściwości. Chromogeny zazwyczaj należą do związków azowych, karbonylowych lub ftalocyjanowych. Grupy mostkujące stanowi grupa atomów, która jest używana do łączenia chromogennej części cząsteczki z grupą reaktywną. W większości przypadków grupy reaktywne mają bardzo proste struktury. Barwniki reaktywne muszą wykazywać odpowiednią reaktywność w kierunku bawełny, jednak niższą reaktywność w stosunku do wody, tak aby nie doszło do hydrolizy grupy reaktywnej barwnika.

Chromoforowe grupy boczne wykazują bardzo dużą zdolność do tworzenia wiązań kowalencyjnych z nukleofilowymi grupami wchodzącymi w strukturę



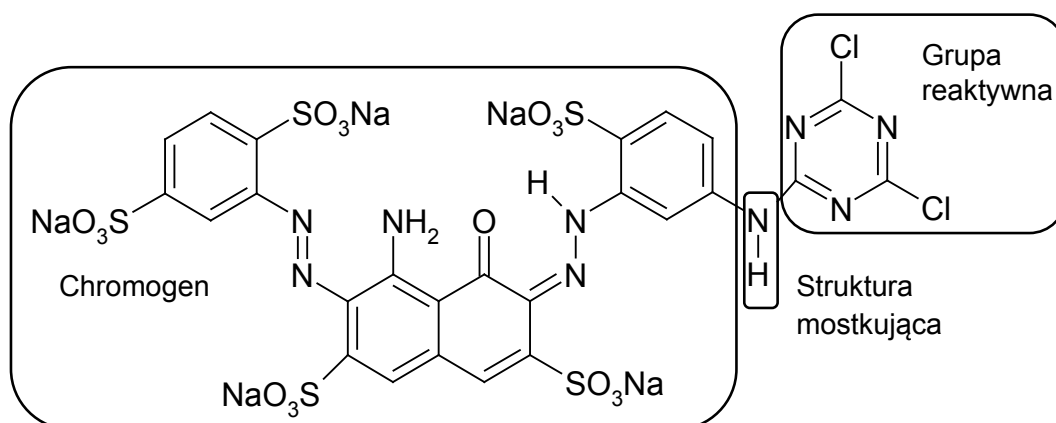
S – grupa nadająca właściwości rozpuszczalności w wodzie

F – chromogen

B – struktura mostkująca

RG – grupa reaktywna

Ryc. 5. Schemat budowy barwnika reaktywnego (Śmigiel-Kamińska i in., 2020)



Ryc. 6. Struktura barwnika reaktywnego REACTIVE BLUE 4 (Śmigiel-Kamińska i in., 2020)

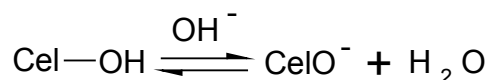
chemiczną włókna m.in. bawełnianego. Wiązanie to pozostaje stabilne w warunkach prania (Lewis, 2014).

Szczegółowy opis barwników reaktywnych przestawiono w publikacji D. Śmigiel-Kamińska i in., 2020.

3. Procedura wybarwiania bawełny barwnikami reaktywnymi

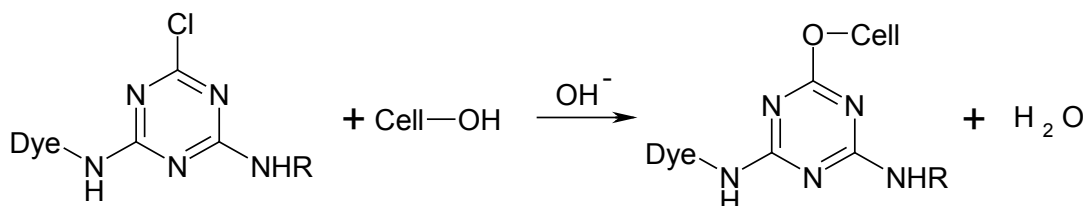
Proces barwienia włókien bawełnianych opiera się na tworzeniu silnego wiązania kowalencyjnego pomiędzy grupami reaktywnymi barwnika, a włóknem celulozowym. Najczęściej wykorzystywana jest zdolność nukleofilowa grup hydroksylowych (-OH) obecnych w cząsteczce celulozy. Reakcja pomiędzy celulozą a barwnikami reaktywnymi zachodzi w środowisku słabo

alkalicznym, w którym następuje deprotonowanie grup hydroksylowych (ryc. 7). Powoduje to wytworzenie silnych nukleofilowych anionów celulozowych, które przyjmują rolę aktywnych nukleofilów w reaktywnym barwieniu celulozy (ryc. 8.) (Wiggins, 2017).



Ryc. 7. Powstawanie anionu celulozowego (Soleimani-Gorgani, Karami, 2016)

Najczęściej stosowaną metodą barwienia bawełny przy wykorzystaniu barwników reaktywnych jest tzw. metoda odciągania. Występują w niej następujące fazy (Benkhaya i in., 2020):



Ryc. 8. Reakcja barwnika reaktywnego z celulożą (Soleimani-Gorgani, Karami, 2016)

- 1) faza wyczerpania – jest to zanurzanie tkaniny w kąpeli barwiącej, aby włókna wchłonęły barwnik. Proces ten zachodzi w środowisku obojętnym. By zwiększyć efektywność farbowania dodaje się chlorek magnezu lub siarczany magnezu, co zwiększa wysycenie włókien barwnikiem. Również stopniowe podwyższanie temperatury wpływa na zwiększenie migracji cząsteczek barwnika do wnętrza włókien;
- 2) faza utrwalania – właściwe farbowanie w środowisku podwyższonego pH (dodanie odpowiedniej ilości alkaliów). Podczas tej fazy grupy hydroksylowe celulozy dysocjują i zachodzi reakcja z barwnikiem;
- 3) faza prania – proces ten ma na celu usunięcie nadmiaru barwnika, który został wchłonięty, ale nie związał się z celulozą, ponadto usuwane są również pozostałości soli i alkaliów. Pranie dzieli się na kilka etapów. Pierwszym etapem jest pranie wstępne, w którym usuwane są część nieutrwalonych barwników, sole i alkalia. Wykorzystuje się do tego zimną i ciepłą wodę. Proces główny prania eliminuje barwniki niezwiązane, ale głęboko wchłonięte do wnętrza włókna celulozowego. Usuwanie polega na tworzeniu kompleksów barwnika ze związkami kationowymi wchodzącymi w skład wykorzystywanych wrzących roztworów detergentów. Proces ten należy powtarzać w zależności od głębokości barwienia, a używany roztwór detergentu często wymieniać.

4. Metody spektroskopowe stosowane w badaniach kryminalistycznych do identyfikacji włókien bawełny barwionej barwnikami reaktywnymi

W laboratoriach kryminalistycznych do badań identyfikacyjno-porównawczych włókien tekstylnych stosuje się między innymi metody spektroskopowe. Informacji o barwie oraz zastosowanych barwnikach dostarczają przede wszystkim badania z wykorzystaniem mikrospektrofotometrii w zakresie ultrafioletu i światła widzialnego (MSP UV-Vis) oraz spektroskopii Ramana (Chalmers i in., 2012; Wiggins, 2017).

MSP UV-Vis służy do obiektywnych obserwacji kolorowych włókien, ponieważ jest metodą niedestrukcyjną, powtarzalną, a w przeciwieństwie do wielu innych metod nie wymaga ekstrakcji barwnika z włókien. Jednakże metoda ta służy przede wszystkim do badań porównawczych tj. porównania widm otrzymanych dla poszczególnych próbek włókien, a nie do identyfikacji barwników (Goodpaster, Liszewski, 2009).

Badania J. Wąs-Gubały i R. Starczak (2015) potwierdziły skuteczność różnicowania pojedynczych włókien bawełny barwionych barwnikami reaktywnymi pochodzącymi od tego samego producenta (nazwa handlowa Cibacron®) oraz możliwość oceny stężenia barwników z wykorzystaniem MSP UV-Vis. Granica wykrywalności wykorzystanej metody MSP UV-Vis

wynosiła 0,18% stężenia barwnika w próbce tekstylnej. Jednakże w trakcie prowadzonych badań zaobserwowano zmienność wewnątrzobiektową, międzyobiektową oraz efekt dichroizmu.

W kolejnych badaniach J. Wąs-Gubały i R. Starczak (2015) przedstawiły ocenę użyteczności MSP UV-Vis oraz spektroskopii Ramana w analizie włókien tekstylnych barwionych mieszaninami barwników syntetycznych, w tym również reaktywnych. Próbkami badawczymi stanowiły włókna bawełny barwione dwu- i trójskładnikowymi mieszaninami barwników reaktywnych. Badania MSP UV-Vis wykazały ograniczone możliwości analizy włókien barwionej bawełny, gdy stosunek stężenia barwnika głównego do drugorzędowego był wyższy niż cztery. Otrzymane wyniki pokazały, iż obie zastosowane metody spektroskopowe posiadają podobną zdolność rozróżnienia mieszanin barwników zastosowanych do wybarwienia włókna.

P. Buzzini i G. Massonnet w prowadzonych badaniach (2013) ocenili potencjał oraz ograniczenia spektroskopii Ramana w trakcie badań włókien różnych rodzajów i kolorów, w tym również wybarwionych barwnikami reaktywnymi. Próbkami włókien zebranych ze 180 tekstyliów przebadano przy użyciu spektroskopii Ramana, mikroskopii optycznej techniką jasnego pola, podwójnej polaryzacji oraz mikroskopii fluorescencyjnej, porównano także przy użyciu MSP UV-Vis i chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Badania wykazały, że spektroskopia Ramana może odgrywać uzupełniającą rolę w powszechnie stosowanych kryminalistycznych badaniach włókien prowadzących do wykrywania i porównania, ewentualnie identyfikacji barwnika. Zbiórca analiza widm uzyskanych z wykorzystaniem laserów o różnych długościach fali stosowanych w spektroskopii Ramana pozwoliła na rozróżnienie par włókien, które wcześniej nie zostały zróżnicowane za pomocą mikroskopii optycznej oraz MSP UV-Vis (Buzzini, Massonnet, 2015).

J. Wąs-Gubały i W. Machnowski (2014) w prowadzonych badaniach potwierdzili różnice pomiędzy bawełną, a włóknami z regenerowanej celulozy (wiskozowymi) wynikające ze zmian stopnia polaryzacji i struktury supramolekularnej przy zastosowaniu spektroskopii Ramana. W ponad 80% otrzymanych widm potwierdzono obecność pasm pochodzących od barwników. W próbkach włókien wybarwionych barwnikami o niższych stężeniach dominowały pasma pochodzące od bawełny i wiskozy, natomiast wyższe stężenie użytych barwników skutkowało obecnością pasm charakterystycznych dla poszczególnych barwników. Jednakże stężenie barwników we włóknach bawełnianych i wiskozowych nie wpłynęło zasadniczo na intensywności pasm charakterystycznych dla poszczególnych barwników, widocznych w widmach ramanowskich otrzymanych dla tych włókien.

Technikami, które znacznie zwiększyły czułość spektroskopii Ramana, są: powierzchniowo wzmocnione rozpraszanie ramanowskie (SERS) oraz powierzchniowo wzmocnione rezonansowe rozpraszanie ramanowskie (SERRS). Jednakże techniki te są bardziej złożone i wymagają doświadczenia

w przygotowaniu próbek w porównaniu do klasycznej spektroskopii Ramana. W związku z tym nie ma wielu doniesień o ich zastosowaniu w badaniach kryminalistycznych służących np. do oznaczania barwników reaktywnych we włóknach bawełny. Niemniej w badaniach naukowych prowadzonych w innych dziedzinach techniki SERS i SERRS są używane do analizy barwników i tekstyliów (Casadio i in., 2010; Degano i in., 2009; Pozzi i in., 2013; Puchowicz i in., 2019; Sciotto i in., 2017; Zaffiono i in., 2014).

Spektroskopia w podczerwieni, jako metoda badawcza pojedynczych włókien, stosowana jest głównie do identyfikacji polimeru włóknotwórczego. Jednakże istnieje możliwość wykorzystania jej również do identyfikacji barwników, ale tylko w przypadku silnie wybarwionych włókien (Kirkbride, 2018). Wynika to z niskiej czułości absorbancji w podczerwieni w stosunku do tych składników, których w barwionych włóknach jest mniej niż 5%, a właśnie na takim poziomie występują barwniki, w tym reaktywne. M. C. Grieve oraz jego współpracownicy (1998) wnioskując na podstawie prowadzonych badań, wskazali na możliwość identyfikacji barwników wykorzystywanych we włókiennictwie przy zastosowaniu spektroskopii w podczerwieni, jednak dotyczyło to szczególnego rodzaju włókien akrylowych. Bardziej popularna w zakresie identyfikacji barwionych włókien, w tym również włókien bawełnianych, okazała się technika spektroskopowego odbicia rozproszonego w podczerwieni (DRIFTS) (Kokot i in., 1997).

Szczegółowy opis możliwości badań spektroskopowych barwionych włókien bawełny przedstawiono we wspomnianej już publikacji D. Śmigiel-Kamińskiej (2020).

5. Metody chromatograficzne wykorzystywane do identyfikacji włókien bawełny barwionej barwnikami reaktywnymi

Chromatograficzne metody badania bawełny barwionej barwnikami reaktywnymi składają się z dwóch głównych etapów: ekstrakcji barwników reaktywnych z włókna oraz analiz chromatograficznych uzyskanych ekstraktów z interpretacją uzyskanych wyników.

5.1. Ekstrakcja barwników reaktywnych z bawełny

Ekstrakcja barwników reaktywnych z bawełny wymaga szczególnych warunków. Konwencjonalne metody ekstrakcji są zbyt słabe, aby rozzerwać silne wiązanie kowalencyjne barwnik reaktywny – celuloza. Najczęściej stosowanym odczynnikiem do rozszczepienia tego wiązania, opisywanym w dostępnej literaturze, jest 1,5% roztwór wodorotlenku sodu (NaOH) (Dockery i in., 2009; Home, Dudley, 1981; Hoy, 2013; Sirén, Sulkava, 1995; Sultana i in., 2019; Xu i in., 2001). W tym celu stosuje się alkaliczną hydrolizę z wykorzystaniem wodnego roztworu mocnej zasady. W środowisku

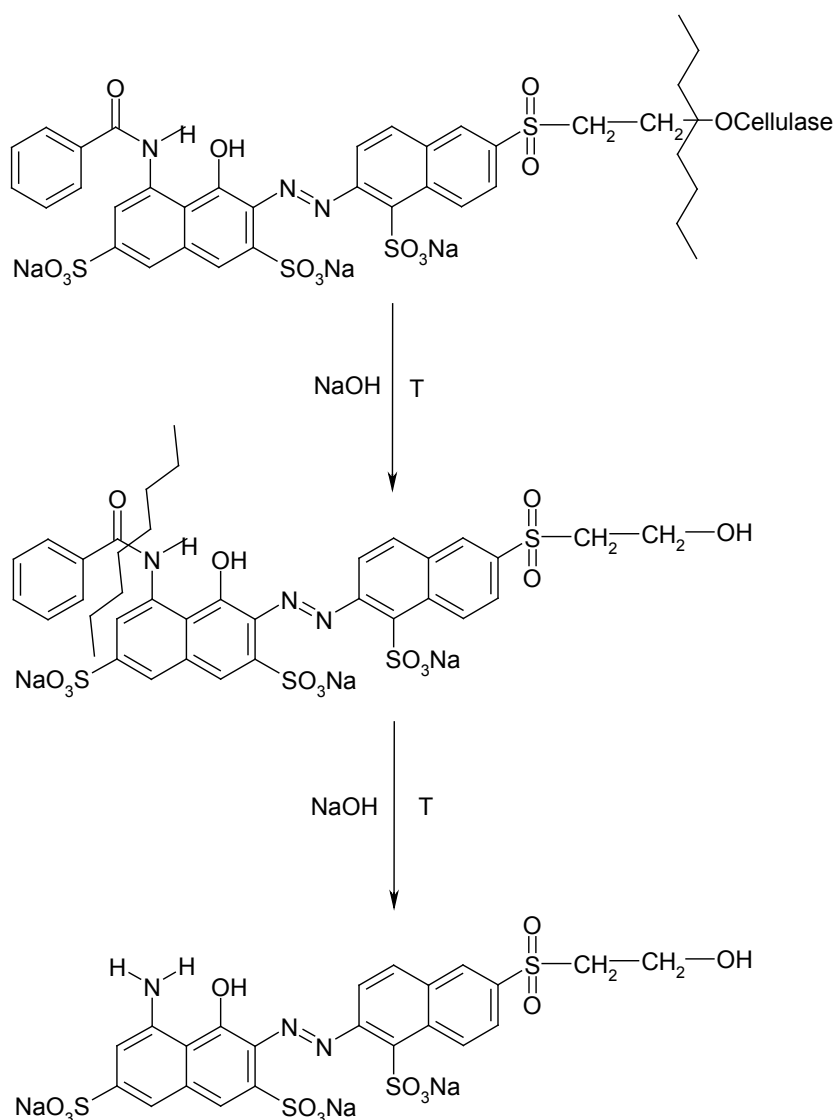
alkalicznym grupy alkoholowe celulozowego szkieletu bawełny zachowują się jak słaby kwas i ulegają jonizacji (Dockery i in., 2009). Podczas prowadzonej hydrolizy może dojść również do rozszczepienia innych wiązań chemicznych obecnych w cząsteczce barwnika, w wyniku czego może powstać wiele produktów. Mechanizm alkalicznej hydrolizy przedstawia rycina nr 9.

Czas trwania hydrolizy alkalicznej wynosił 25 min (Sirén, Sulkava, 1995) lub 60 min (Hoy, 2013; Feng i in., 2020; Sultana i in., 2019), a temperatura ekstrakcji 80°C (Feng i in., 2020; Sultana i in., 2019) lub 100°C (Hoy, 2013; Sirén, Sulkava, 1995; Xu i in., 2001). W zależności od wielkości próbek badawczych użyto 5 µl (Xu i in., 2001), 50 µl (Hoy, 2013), 500 µl (Dockery i in., 2009) i 1 ml (Feng i in., 2020; Sultana i in., 2019) roztworu NaOH.

Wiązanie kowalencyjne barwnik reaktywny – bawełna próbowano również rozszczepić przy użyciu: mieszaniny siarczek sodu – woda – poli(vinylpirolidon) (PVP) (Home, Dudley, 1981), bromowodoru (Home, Dudley, 1981), 60% H₂SO₄ (Home, Dudley, 1981), 29,7% wodorotlenku amonu (Dockery i in., 2009) i wodorotlenku baru (Dockery, 2009). Dane mówiące o użytych objętościach pozostałych czynników ekstrahujących nie zostały przedstawione.

Wyżej opisane badania przeprowadzono na materiale badawczym w postaci: fragmentów odzieży bawełnianej o powierzchni 0,25-5,5 cm² (Sirén, Sulkava, 1995), 3 mg bawełny (Feng i in., 2020; Sultana i in., 2019), 10 cm bawełnianej nitki (Dockery i in., 2009) oraz pojedynczych włókien o długości 1-15 mm (Hoy, 2013).

Kolejną metodą wykorzystywaną do ekstrakcji barwników reaktywnych z włókien bawełnianych jest ekstrakcja enzymatyczna (Carey i in., 2013; Feng i in., 2020; Góra, Wąs-Gubała, 2019; Schotman i in., 2017). Pierwszy etap tej ekstrakcji jest podobny do hydrolizy alkalicznej przedstawionej powyżej z wyjątkiem zastosowanych objętości roztworu NaOH. Były one następujące: 10 µl (Carey i in., 2013; Schotman i in., 2017), 50 µl (Góra, Wąs-Gubała, 2019) oraz 100 µl (Feng i in., 2020). Po tym etapie materiał badawczy zwykle był płukany w kwasie octowym (CH₃COOH) i roztworze celulazy (Carey i in., 2013), roztworze celulazy w CH₃COOH o pH 5 (Schotman i in., 2017) lub roztworze celulazy w buforze octowym o pH 5 (Feng i in., 2020; Góra, Wąs-Gubała, 2019). Następnie do próbek dodawano roztwór celulazy i przeprowadzano ekstrakcję enzymatyczną według różnych procedur: 20 h z mieszaniem (500 rpm) 50°C (Carey i in., 2013; Schotman i in., 2017), 20 h w łaźni wodnej lub z wykorzystaniem ultradźwięków w temperaturze 50, 55 i 60°C (Góra, Wąs-Gubała, 2019) oraz 24 h w łaźni z wstrząsaniem w 50°C (Feng i in., 2020). Jako materiał badawczy użyto: 3 mg tkaniny bawełnianej (Feng i in., 2020), 1 cm bawełnianej nitki (Góra, Wąs-Gubała, 2019) oraz włókno bawełniane o długości 10 mm (Carey i in., 2013; Schotman i in., 2017). W zależności od wielkości próbki bawełny objętość roztworu celulazy wynosiła 10 µl (Carey i in., 2013; Schotman i in., 2017), 150 µl (Góra, Wąs-Gubała, 2019) i 1 ml (Feng i in., 2020).



Ryc. 9. Mechanizm alkalicznej hydrolizy barwnika reaktywnego (Śmigiel-Kamińska i in., 2020)

Podsumowując, najlepsze wyniki ekstrakcji barwników reaktywnych z bawełny otrzymano dla 1,5% roztworu NaOH (hydroliza alkaliczna) i roztworu celulazy (ekstrakcja enzymatyczna). Jednakże czas prowadzenia hydrolizy alkalicznej jest krótszy od procedury z wykorzystaniem ekstrakcji enzymatycznej.

Szczegółowy opis warunków ekstrakcji barwników reaktywnych z bawełny przedstawiono w publikacji D. Śmigiel-Kamińska i in. (2020).

5.2. Analiza chromatograficzna barwników reaktywnych wyekstrahowanych z barwionej bawełny

Włókna jako ślady kryminalistyczne najczęściej mają długość nie większą niż kilka milimetrów i zawierają od 2 do 200 ng barwnika (Dorrien, 2006). W związku z tym metody chromatograficzne stosowane do identyfikacji barwników reaktywnych izolowanych z włókien bawełny muszą być bardzo czułe. Z tego powodu najczęściej stosowanymi technikami identyfikacji

są wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) sprzężona z następującymi detektorami: spektrofotometrycznym UV-Vis (Zotou i in., 2002), matrycą diodową (DAD) (Carey i in., 2013; Chemchame i in., 2010; Chemchame i in., 2012; Feng i in., 2020; Schotman i in., 2017; Sultana i in., 2019), spektrometrem mas wysokiej rozdzielczości (HRMS) (Carey i in., 2013; Feng i in., 2020; Schotman i in., 2017; Sultana i in., 2019) lub tandemowym spektrometrem mas (MS/MS) (Hu i in., 2018). Dane literaturowe pokazują, iż aparaty HPLC-MS zazwyczaj były wyposażone w dwa systemy detekcji (Carey i in., 2013; Feng i in., 2020; Schotman i in., 2017; Sultana i in., 2019).

Rozdzielenia chromatograficzne najczęściej prowadzi się przy wykorzystaniu faz krzemionkowych modyfikowanych grupami C18 (faza odwrócona) (Chemchame i in., 2010; Chemchame i in., 2012; Feng i in., 2020; Hu i in., 2018; Sultana i in., 2019; Zotou i in., 2002) i długości kolumn od 50 do 150 mm. W przypadku badań prowadzonych przez A. Carey wraz ze współpracownikami (przypis 2013) oraz T. G. Schotman

ze współpracownikami (przypis 2017) zastosowana została kolumna chromatograficzna Grom-sil 120 ODS-5 ST o długości 150 mm.

W większości przypadków rozdzielanie chromatograficzne barwników reaktywnych prowadzi się w programach gradientowych przy użyciu takich faz ruchomych jak: wodny roztwór mrówczanu amonu i HCOOH (pH 4) oraz MeOH/ACN 70/30 (Sultana i in., 2019); octan amonu w mieszaninie MeOH/H₂O (95/5) oraz octan amonu w mieszaninie ACN/MeOH (50/50) (Carey i in., 2013; Schotman i in., 2017), wodny roztwór mrówczanu amonu i HCOOH (pH 4) oraz MeOH/ACN (70/30) (Feng i in., 2020), octan amonu w mieszaninie H₂O/ACN (90/10) (pH 6) oraz octan amonu w mieszaninie H₂O/ACN (10/90) (Chemchame i in., 2012; Hu i in., 2018), mieszanina CH₃COOH z H₂O oraz zakwaszony ACN (Hu i in., 2018). W jednym przypadku zastosowane zostały warunki izokratyczne przy użyciu fazy ruchomej w postaci mieszaniny ACN i octanu amonu (47:53, v/v). Jako środek parujących jony zastosowano bufor zawierający bromek trimetyloamoniowy (CTAB) (Zotou i in., 2002).

Szybkość przepływu faz ruchomych mieściła się w zakresie od 0,3 ml/min do 0,8 ml/min; czas analizy od 9,5 min (Sultana i in., 2019) do 78 min (Schotman i in., 2017); a objętość nastrzyku od 10 do 20 µl.

Kolejną techniką chromatograficzną, stosowaną do identyfikacji barwników reaktywnych na potrzeby kryminalistyki, jest ultrasprawa chromatografia cieczowa (UPLC) sprzężona z detektorami DAD oraz MS/MS (Hoy, 2013). Rozdzielenia analitów dokonywano za pomocą kolumny C18 o długości 50 mm. Jako fazy ruchome zastosowano: roztwór wodny 10 mM octanu amonu (pH 9,3) oraz ACN. Analiza prowadzona była w warunkach gradientowych. Szybkość przepływu faz wynosiła 0,4 ml/min, czas analizy 5 min, a objętość nastrzyku 10 µl (Hoy, 2013).

Jak wspomniano wyżej, rozerwanie wiązania kowalencyjnego utworzonego pomiędzy barwnikiem reaktywnym a włóknem bawełny, za pomocą hydrolizy alkalicznej lub ekstrakcji enzymatycznej, może skutkować pojawieniem się zmienionych struktur barwników oraz powstaniem wielu produktów reakcji z pojedynczej cząsteczki tegoż barwnika. Z tego powodu bardzo przydatna, przed analizami, okazała się synteza częściowo i całkowicie zhydrolizowanych form poszczególnych barwników reaktywnych (Feng i in., 2020; Nayar, Freeman, 2008; Sultana i in., 2019) lub/i uzyskanie produktów ekstrakcji enzymatycznej zawierających jednostki celobiozy (Wąs-Gubała, Machnowski 2014).

Szczegółowy opis warunków analiz chromatograficznych barwników reaktywnych ekstrahowanych z bawełny przedstawiono w publikacji pt. D. Śmigiel-Kamińskiej i in. (2020).

5.3. Identyfikacja barwników obecnych w bawełnie barwionej różnymi rodzajami barwników

Przedstawione powyżej warunki analiz odnoszą się do włókien bawełnianych wybarwionych barwnikami

reaktywnymi. Jednakże poszczególne włókna mogą być również barwione mieszaninami różnych rodzajów barwników. W związku z tym, w dostępnej literaturze, można znaleźć algorytmy bardzo pomocne w identyfikacji barwników lub ich mieszanin przy wykorzystaniu reakcji charakterystycznych lub zastosowaniu TLC (Laing i in., 1991; Lewis, 2009; Wiggins, 2017).

Jako jedni z pierwszych, schemat identyfikacji barwników reaktywnych, poprzez wykluczenie, zaproponowali D. K. Laing oraz współpracownicy (1991). W przedstawionej procedurze barwniki nie były ekstrahowane organicznymi rozpuszczalnikami. Włókna poddawano działaniu środka redukującego jakim jest ditionin sodu w wodorotlenku sodu. Jeżeli barwniki miały charakter azowy to ulegały odbarwieniu. Ta nieodwracalna reakcja pozwalała odróżnić azowe barwniki reaktywne od pozostałych klas barwników.

Ekspert z byłego Forensic Science Service w Anglii opracowali schematy ekstrakcji barwionych włókien, w tym również bawełny w celu izolacji oraz identyfikacji różnych klas barwników (Laing i in., 1991). Schemat taki również został przedstawiony przez D. M. Lewisa (2009) w jednym z rozdziałów książki pod tytułem „Identification of Textile Fibres” (ryc. 10).

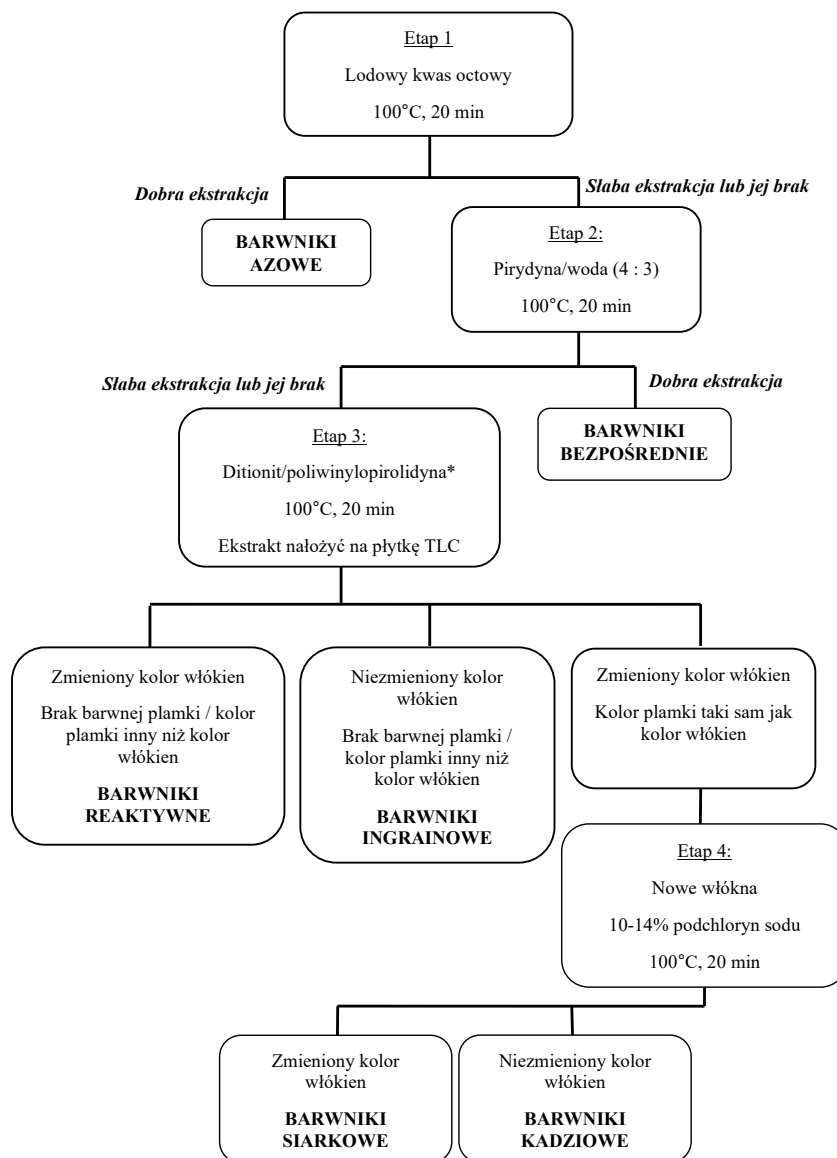
6. Porównanie potencjału metod chromatograficznych i spektroskopowych do identyfikacji włókien bawełnianych do celów sądowych

Badania kryminalistyczne muszą dostarczyć możliwie najwięcej informacji na temat badanego materiału dowodowego. Identyfikacja i badania porównawcze mikrośladów w postaci włókien opierają się na metodach mikroskopowych, spektroskopowych, jak również chromatograficznych.

Pierwszym etapem badań barwionych włókien tekstylnych w laboratoriach kryminalistycznych są badania wykorzystujące mikroskopię optyczną. Obraz mikroskopowy uzyskany w ten sposób daje istotne informacje o budowie i właściwościach fizykochemicznych włókien, w tym o ich kolorze. Wykorzystuje się wówczas mikroskopię: stereoskopową (ze światłem odbitym), badawczą (ze światłem przechodzącym białym, spolaryzowanym i ultrafioletowym (UV)) oraz fluorescencyjną.

Po etapie badań mikroskopowych następuje faza analizy składu chemicznego włókien, w której wykorzystuje się przede wszystkim techniki spektroskopowe, zdecydowanie rzadziej chromatograficzne. Wybór metody badawczej uwarunkowany jest postacią i ilością materiału zarówno dowodowego, jak i porównawczego, ale również dostępnym odpowiedniego wyposażeniem laboratoriów kryminalistycznych.

Stosowane techniki spektroskopowe należą do tych, które w większości przypadków nie wykazują destrukcyjnego wpływu na badane próbki, co jest bardzo ważne w badaniach kryminalistycznych. Otrzymane wyniki to widma z pasmami charakterystycznymi



* ditionian sodu (80 mg), poliwinylpyrrolidyna (30 mg), NaOH (10%, 450 µl), woda (9 ml); użyć natychmiast

Ryc. 10. Schemat ekstrakcji barwników z włókien bawełnianych i celulozowych (Lewis, 2009)

dla polimerów włóknotwórczych, barwników bądź obu tych składników włókien. Uzyskane dane zależą od rodzaju wybranej do badań spektroskopii (MSP UV-Vis, FTIR, spektroskopia Ramana) oraz parametrów pomiarów (np. długość linii wzbudzenia).

Uzupełnieniem prowadzonych badań włókien mogą być również te przeprowadzone przy wykorzystaniu skaningowego mikroskopu elektronowego, zwłaszcza kiedy jednym z aspektów analizy włókien są ich uszkodzenia. Jednakże uzyskany obraz jest biało-czarny, w związku z tym technika ta nie nadaje się do identyfikacji barwników.

Techniki chromatograficzne są niszczące w stosunku do materiału badawczego, ale wyniki takich badań mogą dostarczyć istotnych informacji na temat zastosowanych barwników. Identyfikacja taka opiera się nie tylko na czasach retencji, ale często również na widmach mas oraz wyselekcjonowanych, charakterystycznych dla danych barwników wartościach m/z.

Techniki te umożliwiają porównanie barwników wyekstrahowanych z włókien stanowiących materiał dowodowy z analogicznie przygotowaną próbką z materiału porównawczego. Często możliwe jest również określenie struktury chemicznej analizowanych barwników.

Kolejnymi parametrami różnicującymi techniki spektroskopowe i chromatograficzne są: czas przygotowania próbki oraz czas analizy. Oba te czasy są dłuższe w przypadku chromatografii.

W trakcie badań z wykorzystaniem technik spektroskopowych włókno traktowane jest jako gotowa próbka, jednak w niektórych przypadkach warunki analizy muszą być ustalane indywidualnie (spektroskopia Ramana).

W technikach chromatograficznych badanie można podzielić na etapy:

- 1) ekstrakcja barwnika/ów z próbki włókien, czy też włókna,
- 2) analiza otrzymanego ekstraktu,
- 3) analiza otrzymanych wyników.

Ponadto proces przygotowania wymaga użycia dodatkowych odczynników oraz specjalnych sprzętów, niemniej jednak warunki analiz poszczególnych barwników są stałe. Jak wspomniano, identyfikacja tych barwników opiera się na parametrze chromatograficznym (czas retencji) oraz widmie mas (wartości m/z).

Podsumowując, zastosowanie metod i technik spektroskopowych oraz chromatograficznych w analizie identyfikacyjno-porównawczej materiału dowodowe-

go, jakim są barwione włókna, posiada zarówno zalety, jak i wady. Dlatego dobór odpowiednich metod badawczych zależy od wielu aspektów, w tym rodzaju, formy i ilości materiału dowodowego, czy wyposażenia laboratorium badawczego. Nie powinno się również zapominać o istotnej roli organu zlecającego badanie kryminalistyczne polegającej na wskazaniu przez niego, istotnego z punktu widzenia analizowanej sprawy, zakresu badawczego (Śmigiel-Kamińska i in., 2019; Śmigiel-Kamińska i in., 2020).

Bibliografia

1. Benkhaya S., M'rabet S., Harfi A. El, *Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes*. Heliyon 6 (2020).
2. Blas K., *Reactive Dyes for Cellulose Fibers*, XXX Seminarium Polskich Kolorystów. (2014), 63–87. Available online: <https://pdfslide.net/documents/xxx-seminarium-polskich-kolorystow.html> (dostępne na dzień 31. stycznia 2022).
3. Broadbent A. D., *Basic Principles of Textile Coloration*. Bradford, England (2001).
4. Buzzini P., Massonnet G., *Discrimination of Colored Acrylic, Cotton, and Wool Textile Fibers Using Micro-Raman Spectroscopy*. Part 1: In situ Detection and Characterization of Dyes. J. Forensic Science 58 (2013), 1593–1600.
5. Buzzini P., Massonnet G., *The analysis of colored acrylic, cotton, and wool textile fibers using micro-Raman spectroscopy*. Part 2: Comparison with the traditional methods of fiber examination. J. Forensic Sci. 60 (2015), 712–720.
6. Carey A., Rodewijk N., Xu X., Van Der Weerd J., *Identification of dyes on single textile fibers by HPLC-DAD-MS*. Anal. Chem. 85 (2013), 11335–11343.
7. Casadio F., Leona M., Lombardi J. R., Van Duyne R., *Identification of Organic Colorants in Fibers, Paints, and Glazes by Surface Enhanced Raman Spectroscopy*. Acc. Chem. Res. 43 (2010), 782–791.
8. Chakraborty J. N., *Dyeing with reactive dye*. w Fundamentals and Practices in Colouration of Textiles. Woodhead Publishing India Pvt. Ltd., Delhi, India (2010), 57–75.
9. Chalmers J., Edwards H., Hargreaves M., *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*. John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA (2012).
10. Chattopadhyay D. P., *Chemistry of dyeing*. w *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*; Clark M., Ed.; Woodhead Publishing, Cambridge, UK (2011), 150–183.
11. Chemchame Y., Popikov I.V., Soufiaoui M., *Study of analytical methods for quantifying unfixed form of bifunctional reactive dyes used in dyeing cellulosic fibers (cotton)*. Fibers Polym. 11 (2010), 565–571.
12. Chemchame Y., Popikov I.V., Soufiaoui M., *Study on analytical methods for quantifying the non-adsorbed reactive dye forms in an exhausted dyebath*. Coloration Technol. 128 (2012), 169–175.
13. Christie R.M., *Colour Chemistry*, 2nd edition, Cambridge, UK (2015).
14. Degano I., Ribechini E., Modugno F., Colombini M.P., *Analytical Methods for the Characterization of Organic Dyes in Artworks and in Historical Textiles*. Appl. Spectrosc. Rev. 44 (2009), 363–410.
15. Dey A. K., Dey A., *Selection of Optimal Processing Condition during Removal of Methylene Blue Dyes Using Treated Betel Nut Fibre Implementing Desirability Based RSM*. w Response Surface Methodology in Engineering Science, IntechOpen, London, UK (2021), 1–14.
16. Dockery C. R., Stefan A. R., Nieuwland A. A., Roberson S. N., Baguley B. M., Hendrix J. E., Morgan S. L., *Automated extraction of direct, reactive, and vat dyes from cellulosic fibers for forensic analysis by capillary electrophoresis*. Anal. Bioanal. Chem. 394 (2009), 2095–2103.
17. Dorrien D.M., *Discrimination of Automobile Carpet Fibers Using Various Analytical Techniques and the Subsequent Creation of a Comprehensive Database*. Ph.D. Thesis, University of Central Florida, Orlando, FL, USA (2006).
18. Feng C., Sultana N., Sui X., Chen Y., Brooks E., Ankeny M.A., Vinuesa N.R., *High-resolution mass spectrometry analysis of reactive dye derivatives removed from biodegraded dyed cotton by chemical and enzymatic methods*. AATCC J. Res. 7 (2020), 9–18.
19. Goodpaster J. V., Liszewski E.A., *Forensic analysis of dyed textile fibers*. Analytical and Bioanalytical Chemistry 394 (2009), 2009–2018.
20. Góra P., Waś-Gubała J., *Enzymatic extraction of dyes for differentiation of red cotton fibres by TLC coupled with VSC*. Sci. Justice 59 (2019), 425–432.
21. Grieve M. C., Grin, R. M. E., Malone R., *An assessment of the value of blue, red, and black cotton fibers as target fibers in forensic science investigations*. Sci. Justice 38 (1998), 27–37.
22. Hatakeyama T., Hatakeyama H., *Thermal Properties of Green Polymers and Biocomposites*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (2004).
23. Home J. M., Dudley R.J., *Thin-layer chromatography of dyes extracted from cellulosic fibres*. Forensic Sci. Int. 17 (1981), 71–78.
24. Houck M. M., (ed), *Identification of textile fibers*. Woodhead Publishing Limited (2009).
25. Hoy S. J., *Development and Figures of Merit of Microextraction and Ultra-Performance Liquid Chromatography for Forensic Characterization of Dye Profiles on Trace Acrylic, Nylon, Polyester, and Cotton Textile Fibers*. Ph.D. Thesis, University of South Carolina, Portland, OR, USA (2013).
26. Hu C., Zhu J., Mei H., Shi H., Guo H., Zhang G., Wang P., Lu L., Zheng X., *A sensitive HPLC-MS/MS method for the analysis of fiber dyes*. Forensic Chem. 11 (2018), 1–6.
27. Jeziorny A., Lipp-Symonowicz B., *Nauka o włóknie*. Wydawnictwa Naukowe Politechniki Łódzkiej, Łódź (1980).
28. Kirkbride K. P., *Infrared microspectroscopy of fibres*. w Forensic Examination of Fibres, 3rd ed.; Robertson, J., Roux, C., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA (2018), 245–289.

29. Kokot S., Crawford K., Rintoul L., Meyer U., *A DRIFTS study of reactive dye states on cotton fabric*. Vib. Spectrosc. 15 (1997), 103–111.
30. Korszak W.W., *Chemia związków wielkocząsteczkowych*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa (1957).
31. Laing D. K., Dudley R. J., Hartshorne A. W., Home J. M., Rickard R. A., Bennett D. C., *The extraction and classification of dyes from cotton and viscose fibres*. Forensic Sci. 50 (1991), 23–35.
32. Lewis D. M., *Developments in the chemistry of reactive dyes and their application processes*. Coloration Technology 130 (2014), 382–412.
33. Lewis D. M., *The chemistry of reactive dyes and their application proces* w *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*; Clark, M., Ed.; Woodhead Publishing Cambridge, UK (2011), 303–364.
34. Lewis S.W., Chapter 11: *Analysis of dyes using chromatography w Identification of Textile Fibres*, Houck, M., Ed., Woodhead Publishing: Cambridge, UK (2009), 203–223.
35. Lucia L., Ayoub A., *Polysaccharide – based Fibers and Composites*. Springer Nature (2018), 77–81.
36. Mahapatra N. N., *Reactive Dyes in Textile Dyes*. Woodhead Publishing India Pvt. Ltd., Delhi, India (2016), 175–197.
37. Morrison R.T., Boyd R.N., *Chemia organiczna*. Tom 2, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa (1985).
38. Nayar S. B., Freeman H. S., *Hydrolyzed reactive dyes*. Part 1: Analyses via fast atom bombardment and electrospray mass spectrometry. Dyes Pigm. 79 (2008), 89–100.
39. Önder, *General introduction to the chemistry dyes w Some Aromatic Amines, Organic Dyes and Related Exposures*. The International Agency for Research on Cancer, Francja (2010), 55–67.
40. Pozzi F., Porcinai S., Lombardi J. R., Leona M., *Statistical methods and library search approaches for fast and reliable identification of dyes using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS)*. Anal. Meth. 5 (2013), 4201–4212.
41. Puchowicz D., Giesz P., Kozanecki M., Cieślak M., *Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) in cotton fabrics analysis*. Talanta 195 (2019), 516–524.
42. Qiu X., Hu S., „Smart” *Materials Based on Cellulose: A Review of the Preparations, Properties, and Applications*. Materials 6 (2013), 738–781.
43. Ross P., Mayer R., Benziman M., *Cellulose biosynthesis and function in bacteria*. Microbiological Reviews 55 (1991), 35–58.
44. Schotman T. G., Xu X., Rodewijk N., van der Weerd J., *Application of dye analysis in forensic fibre and textile examination: Case examples*. Forensic Sci. Int. 278 (2017), 338–350.
45. Sciuotto G., Prati S., Bonacini I., Littl L., Meneghetti M., Mazzeo R., *A new integrated TLC/MU-ATR/SERS advanced approach for the identification of trace amounts of dyes in mixtures*. Anal. Chim. Acta 991 (2017), 104–112.
46. Shang S. M., *Process Control in dyeing od textiles*. w *Process Control in Textile Manufacturing*, Majumdar, A., Das, A., Eds., Woodhead Publishing: Cambridge, UK (2013), 300–338.
47. Shore J., *Colorants and Auxiliaries: Colorants*. Society of Dyers and Colourists, Hobbs The Printers, Wielka Brytania (2002).
48. 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. Chromatogr. A 717 (1995), 149–155.
49. Soleimani-Gorgani A., Karami Z., *The effect of biodegradable organic acids on the improvement of cotton ink-jet printing and antibacterial activity*. Fibers and Polymers 17 (2016), 512–520.
50. Sultana N., Williams K., Ankeny M., Vinueza N. R., *Degradation studies of CI Reactive Blue 19 on biodegraded cellulosic fabrics via liquid chromatography-photodiode array detection coupled to high resolution mass spectrometry*. Coloration Technol. 135 (2019), 475–483.
51. Śmigiel-Kamińska D., *Destrukcyjny wpływ środków żrących na wyroby włókiennicze i włókna w aspekcie badań kryminalistycznych*. Problemy Kryminalistyki, 284 (2014), 26–31.
52. Śmigiel-Kamińska D., Pośpiech J., Makowska J., Stepnowski P., Wąs-Gubała J., Kumirska J., *The identification of polyester fibers dyed with disperse dyes for forensic purposes*. Molecules, 24 (2019), 613.
53. Śmigiel-Kamińska D., Wąs-Gubała J., Stepnowski P., Kumirska J., *The Identification of Cotton Fibers Dyed with Reactive Dyes for Forensic Purpose*. Molecules, 25 (2020).
54. Wąs-Gubała J., Machnowski W., *Application of Raman spectroscopy for differentiation among cotton and viscose fibers dyed with several dye classes*. Spectroscopy Letters 47 (2014), 527–535.
55. Wąs-Gubała J., Starczak R., *Nondestructive identification of dye mixtures in polyester and cotton fibers using Raman spectroscopy and ultraviolet-visible (UV-Vis) microspectrophotometry*. Appl. Spectrosc 69 (2015), 296–303.
56. Wąs-Gubała J., Starczak R., *UV-Vis microspectrophotometry as a method of differentiation between cotton fibre evidence coloured with reactive dyes*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy 142 (2015), 118–125.
57. Wąs-Gubała J., *Włókno jako ślad kryminalistyczny*. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków (2000).
58. Wąs-Gubała J., *Wpływ wybranych czynników na destrukcję włókien i wyrobów włókienniczych w aspekcie ich znaczenia w procesie sądowym*. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków (2009).
59. Wiggins K. G., *Fibre Dyes Analysis*. w *Forensic Examination of Fibres*, 3rd ed., Robertson J., Roux C., Eds.; CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 227 (2017), 239–241.
60. Xu X., Leijenhorst H.A.L., Van Den Hoven P., De Koeijer J. A., Logtenberg H., *Analysis of single textile fibres by sample-induced isotachopheresis – Micellar electrokinetic capillary chromatography*. Sci. Justice 41 (2001), 93–105.
61. Zaffiono C., Bruni S., Guglielmi V., De Luca E., *Fourier-transform surface-enhanced Raman spectroscopy (FT-SERS) applied to the identification of natural dyes in textile fibers: An extraction-less approach to the analysis*. J. Raman Spectroscopy. 45 (2014), 211–218.
62. Zięba-Palus J., (ed), *Mikroślady i ich znaczenie w postępowaniu przygotowawczym i sądowym*. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków (2015).
63. Zollinger H., *Reactive Azo Dyes*. w *Color Chemistry: Synthesis, Properties and Application of Organic Dyes and Pigments*, 3rd ed., Verlag Helvetica Acta, Willej-VCH, Weinheim, Germany (2003), 225–240.
64. Zotou A., Eleftheriadis I., Heli M., Pegiadou S., *Ion Ion-pair high performance liquid chromatographic study of the hydrolysis behaviour of reactive fluorotriazinic dyes*. Dyes Pigm. 53 (2002), 267–275.
65. Zugenmaier P., *Crystalline Cellulose and Cellulose Derivatives, Characterization and Structures*. Springer, Verlag Berlin Heidelberg (2008).

Źródła finansowania:

- Środki DS Pracowni Analizy i Diagnostyki Chemicznej Wydziału Chemii UG – grant nr 531-T010-D593-23
- Projekt BMN nr 539-T010-B912-21
- Środki statutowe IES – w ramach projektu: X/K/2019-2022