

Tecnica analitica: **gas cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS)**

Campionamento e tipo di analisi: adatta alla determinazione qualitativa e quantitativa di composti organici in campioni gassosi, liquidi o solidi. I liquidi o solidi (<1 mg) sono analizzati dopo opportuno pre-trattamento chimico ad umido: a seconda degli analiti di interesse possono essere necessari stadi di estrazione, idrolisi, derivatizzazione. Analisi microinvasiva e microdistruttiva.

Principio di funzionamento: il campione viene iniettato all'interno di un sistema gas cromatografico costituito da una colonna capillare in forno termostato, attraversata da un flusso di elio. Le varie specie chimiche che compongono il campione vengono separate durante il loro percorso nella colonna e rilevate dallo spettrometro di massa.

Procedura analitica adottata per i campioni di unguenti antichi: il campione (0,1-1 mg) viene sottoposto a idrolisi (saponificazione) con soluzione alcolica di idrossido di potassio in microonde. In seguito a estrazioni con esano e etere etilico si ottengono due frazioni (acida e neutra), analizzate separatamente dopo derivatizzazione con BSTFA.

Strumentazione e condizioni sperimentali adottate: è stato utilizzato un gas cromatografo mod.6890N (Agilent Technologies, USA), equipaggiato con un iniettore PTV e un rivelatore a spettrometria di massa a quadrupolo Agilent Technologies mod. 5973 Mass Selective Detector (impatto elettronico 70eV, intervallo di massa 50-600, temperatura di interfaccia 280°C).

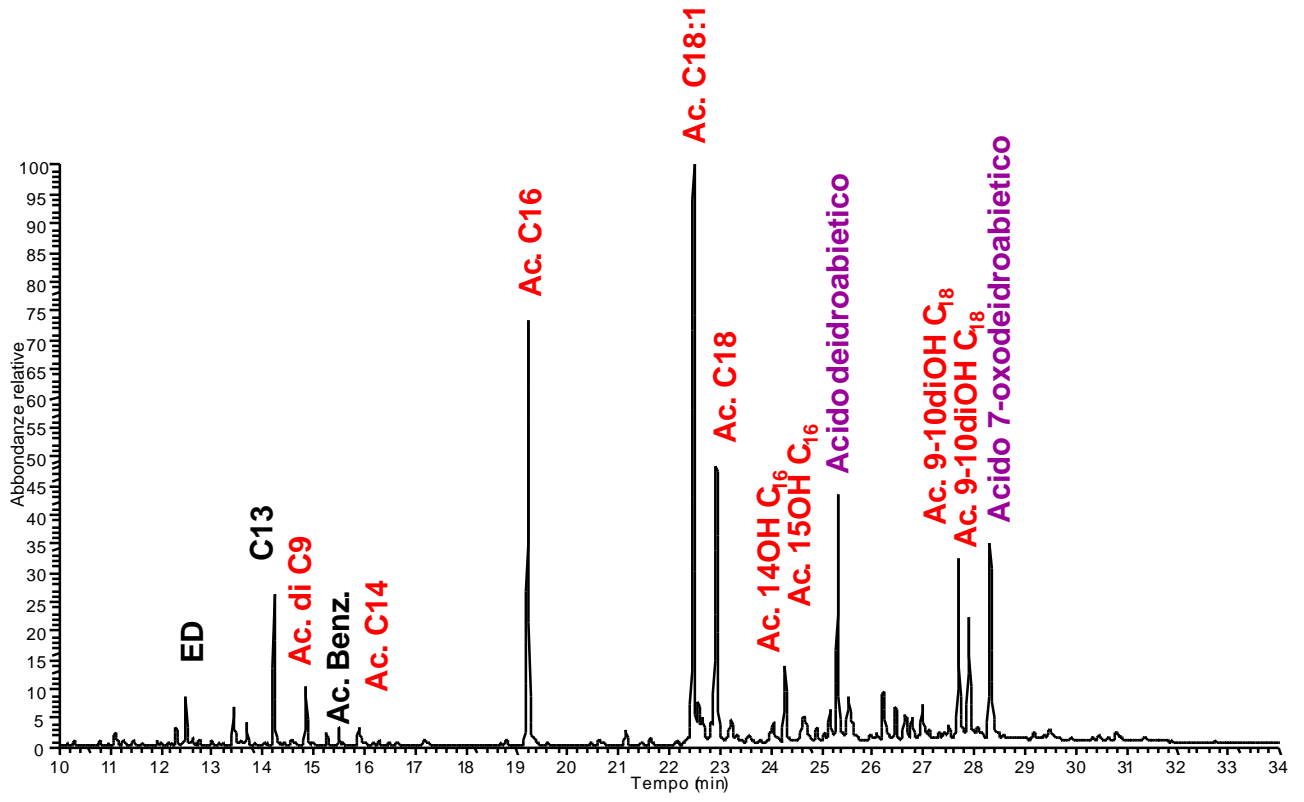
Condizioni della separazione gas cromatografica:

- colonna capillare in silice fusa HP-5MS (Hewlett Packard, fase stazionaria dimetilpolisilossano contenente il 5% di sostituenti fenilici, diametro interno 0.25mm, spessore del film 0.25 μ m, lunghezza 30 m), collegata mediante connettore press-fit a una precolonna capillare in silice fusa disattivata (diametro interno 0.32 mm, lunghezza 2 m);
- temperatura dell'iniettore PTV: 280°C;
- programma di temperatura del forno: temperatura iniziale 80°C e isoterma per 2 minuti; successivamente 10°C/min fino a 200°C e isoterma per 2 minuti per poi raggiungere i 280°C a 10°C/min e mantenere l'isoterma per 30 minuti.
- gas di trasporto: elio (He, purezza 99,999%) con flusso costante di 1.2 ml/min.

Informazioni ottenibili: L'analisi GC/MS fornisce profilo molecolare dettagliato dei composti organici, che vengono identificati mediante confronto con composti standard o librerie di spettri di massa. E' possibile investigare le sostanze organiche naturali presenti (resine terpeniche, cere naturali, oli e grassi) in base alla presenza di specifici biomarker molecolari oppure in base a specifici profili di molecole significative (acidi grassi, alcool, alcani). Il profilo cromatografico generalmente permette l'identificazione del tipo di resina terpenica o di cera naturale a livello di genere, mentre, nel caso di glicerolipidi (oli e grassi di origine vegetale o animale), il profilo degli acidi grassi risulta aspecifico e non permette nella maggior parte dei casi, una precisa determinazione della fonte dei trigliceridi.

Esempio di analisi: Cromatogramma ottenuto mediante GC/MS di un campione dell'unguento etichettato come "*ung. colophonie*" da Museo Aboca (San Sepolcro, Arezzo) n. inventario 50017 (XVIII secolo), frazione acida dopo saponificazione, estrazione e derivatizzazione con un agente sililante (BSTFA).

Gli acidi diterpenoidi a struttura abietanica (acido deidroabietico e acido 7-osso-deidroabietico) indicano la presenza di resina di pino. Gli acidi dicarbossilici (diC9), gli acidi grassi (C14, C16, C18:1, C18) e gli idrossiacidi sono indicativi di trigliceridi probabilmente derivanti da un olio vegetale. Il riscontro di un caratteristico profilo di alcool ed alcani a catena lunga nella frazione neutra dello stesso campione indica che la formulazione contiene anche cera d'api.



Analytical technique: **Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)**

Sampling and analysis: this technique is suitable for qualitative and quantitative determination of organic compounds in gaseous, liquid or solid samples. Liquid or solids (<1mg) were analyzed after appropriate chemical pre-treatment: depending on the analytes of interest may be necessary more stages of extraction, hydrolysis, derivatisation... Kind of analysis: micro-invasive and micro-destructive.

Principle of operation: the sample is injected into a gas chromatographic system consists of a capillary column into a thermostat oven, crossed by a stream of helium. The various chemical species that compose the sample are separated into the column and detected by mass spectrometer.

Analytical procedure adopted for ancient samples of ointments: sample (0.1-1mg) is subjected to hydrolysis (saponification) with alcoholic solution of potassium hydroxide in microwave. They made two extractions with hexane and diethyl ether to obtain two fractions (acid and neutral). These are analyzed separately after derivatization with BSTFA.

Instrumentation and experimental conditions: in this work was used a gas chromatograph (mod.6890N, Agilent Technologies, USA) equipped with a PTV injector and a quadrupole mass spectrometry detector (mod.5973 Mass Selective Detector, Agilent Technologies, USA; electron impact 70eV, mass range 50-600, interface temperature 280°C).

The gas chromatographic conditions are the follows:

- fused silica capillary column HP-5MS (Hewlett Packard, dimethylpolysiloxane stationary phase containing 5% phenyl substituents, internal diameter 0,25mm, film thickness 0,25µm, length 30m) connected by press-fit connector to a capillary pre-column with deactivated fused silica (inner diameter 0,32mm, length 2m);
- PTV injector temperature: 280°C;
- Oven temperature program: initial temperature 80°C and isothermal for 2 minutes, then 10°C/min to 200°C and isothermal for 2 minutes

before reaching the 280°C to 10°C/min and maintain isothermal for 30 minutes.

- Carrier gas: helium (He, 99.999% purity) with a constant flow of 1.2ml/min.

Information obtained: the GC/MS analysis provides detailed molecular profiling of organic compounds, which are identified by comparison with standard compounds or mass spectra libraries. With this technique is possible investigate the natural organic substance present (resin, terpenes, natural waxes, oils and fats) based on the presence of specific molecular biomarkers, or according to specific profiles of important molecules (fatty acids, alcohols, alkanes). The chromatographic profile generally allows the identification of the type of terpene resin or natural wax at genus level; whereas, in case of glycerolipides (oils and fats of vegetable or animal origin), the fatty acid profile is non-specific and does not allow the most cases, a precise determination of the source of triglycerides.

Sample analysis: the chromatogram was obtained by GC/MS analysis of as sample of ointment labelled “ung. Colophonie” from Museo Aboca (Sansepolcro, Arezzo) No inventory 50017 (eighteenth century), acidic fraction after saponification, extraction and derivatization with BSTFA. The diterpenoids acids with the abietanic structure (dehydroabietic acid and 7-oxo-dehydroabietic acid) indicate the presence of pine resin. Dicarboxylic acid (diC9), fatty acids (C14, C16, C18, C18:1) and hydroxy acid are probably indicative of triglycerides from vegetable oil. The finding a characteristic profile of long-chain alkanes and alcohols in neutral fraction of the same sample indicates that the formulation also contains beeswax.

