

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ NMR

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ
ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΑ ΜΕ ΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ
ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΥΠΡΑΞΙΑ ΚΑΡΤΣΩΝΑΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΣΠΥΡΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2012

UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

NMR LABORATORY

DEVELOPMENT OF A METHODOLOGY FOR THE ANALYSIS
OF ORGANIC MATERIALS IN ARCHAEOLOGICAL AND
HISTORICAL OBJECTS WITH THE USE OF NUCLEAR
MAGNETIC RESONANCE (NMR) SPECTROSCOPY

PhD THESIS

EFPRAXIA KARTSONAKI

SUPERVISOR: APOSTOLOS SPYROS

HERAKLION, JUNE 2012

Στον πατέρα μου, που τόσο θα ήθελε να είναι εδώ

Και στη μητέρα μου, αέναη πηγή έμπνευσης και δύναμης

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

1. Απόστολος Σπύρος (Επιβλέπων, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
2. Φώτης Νταής (Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
3. Δημήτριος Άγγλος (Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)

Επταμελής εξεταστική επιτροπή

1. Απόστολος Σπύρος (Επιβλέπων, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
2. Φώτης Νταής (Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
3. Δημήτριος Άγγλος (Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
4. Χαράλαμπος Κατερινόπουλος (Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
5. Νικόλαος Χανιωτάκης (Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
6. Σπυρίδων Περγαντής (Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)
7. Κωνσταντίνος Δημάδης (Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης)

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνομα	Ευπραξία
Επίθετο	Καρτσωνάκη
Διεύθυνση	15 Forsyth St, Fairfield, 4103 QLD, Australia
Τηλέφωνο	+61 7 3392 7759, +61 420 481769
E-mail	efik@chemistry.uoc.gr, e.kartsonaki@gmail.com
Ημερομηνία Γέννησης	19 Φεβρουαρίου 1976
Τόπος Γέννησης	Πειραιάς Αττικής
Εθνικότητα	Ελληνική

ΑΝΩΤΑΤΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

Ιουν 2007 – Ιουν 2012	Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας Διδακτορικό Δίπλωμα
Σεπ 2000 – Σεπ 2001	University of Sheffield, Department of Archaeology and Prehistory MSc Archaeomaterials With Distinction
Σεπ 1993 – Σεπ 2000	Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας Πτυχίο Χημικού Βαθμός Πτυχίου: 7.00

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ

ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιαν 2003 - Ιαν 2006	British School at Athens, (Βρετανική Σχολή Αθηνών) Εργαστήριο Fitch Archaeological Chemistry Fellow Χημική Ανάλυση (με χρήση ICP-AES) αρχαίων κεραμικών αγγείων με σκοπό τη μελέτη της προέλευσης και της τεχνολογίας κατασκευής τους.
Σεπ 2001 - Μάιος 2002	University of Sheffield, Department of Archaeology and Prehistory Research Assistant Στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού TMR Network GEOPRO. Βιβλιογραφική Έρευνα, συλλογή πληροφοριών/δεδομένων για σύνταξη βάσεων δεδομένων και ιστοσελίδας του προγράμματος, σχεδίαση γεωλογικών χαρτών. Διασύνδεση με τους συνεργάτες του προγράμματος.

Ιουν - Αυγ 1999

Ι.ΘΑ.ΒΙ.Κ (Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης)

Βοηθός Έρευνας

Στα πλαίσια του προγράμματος Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ. πρακτικής άσκησης φοιτητών του Πανεπιστημίου Κρήτης. Ποσοτική Ανάλυση τοξικών βαρέων μετάλλων (Cu, Cr, Pb, και Cd) με Ατομική Απορρόφηση θαλάσσιων ιζημάτων από τα βόρεια παράλια της Κρήτης.

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

1998

Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα “Socrates”

Εννεάμηνη υποτροφία στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος ανταλλαγής φοιτητών “Socrates”, για διαμονή και εκπόνηση διπλωματικής εργασίας στη Γαλλία (Université de Paris-Sud (Paris XI), Institut de Chimie Moléculaire d’Orsay, Laboratoire de Chimie Bioorganique et Bioinorganique)

1993-1994

Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ)

Ετήσια υποτροφία λόγω επιτυχίας πρώτης θέσης κατά την εισαγωγή στο τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

ΕΡΓΑΣΙΕΣ

Διδακτορική Διατριβή

“Ανάπτυξη Μεθοδολογίας για την Ανάλυση Οργανικών Υλικών σε Αρχαιολογικά και Ιστορικά Αντικείμενα με τη Φασματοσκοπία Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού (NMR)”

Μεταπτυχιακή
Διπλωματική Εργασία

“Examination of Low-Fired Calcareous and Non-Calcareous Clays: A Proposal for Firing Temperature Estimation of Low-Fired Archaeological Ceramics”

Πτυχιακή
Διπλωματική Εργασία

“Synthèse de Biocapteurs de Fer à Activité Biologique”
(Σύνθεση Βιοαισθητήρων Σιδήρου με Βιολογική Δράση)

ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

Αθήνα

28-31 Μαΐου 2003

4^ο Συμπόσιο Αρχαιομετρίας

E. Kiriatzki, A. Tsolakidou, **E. Kartsonaki**, A. Pentedeka, I.K. Whibread and W. Gauss, “An Interdisciplinary Study of Bronze Age Pottery Production and Supply at Kolonna, Aegina”

Βρετανική Σχολή Αθηνών

28 Φεβρουαρίου 2005

Upper House Seminar

E. Kartsonaki, “Entangling Chemical Variability in Ancient Pottery Studies; An Illustration from Bronze Age Aegina”

Μπράντφορντ 13-16 Απριλίου 2005	UK Archaeological Science 2005 Conference E. Kartsonaki , E. Kiriati, A. Pentedeka and W. Gauss, "Through the Hands of the Potter to the Birth of a Pot; Reconstructing Pottery Making in Bronze Age Aegina, Central Aegean" J. Hilditch, E. Kartsonaki , E. Kiriati and K. Psaraki, "Out with the Old in with the New; Establishing Local Traditions and Emerging Trends within the Ceramic Assemblage of Early Bronze Age II Thebes, Central Greece"
Λισαβόνα 25-28 Απριλίου 2007	TechnArt 2007 E. Kartsonaki , A. Spyros and D. Anglos, "Characterization of Terpenoid Resin Varnishes Used in Artworks by NMR Spectroscopy"
Γκροσέτο (Ιταλία) 24-19 Ιουνίου 2007	1st - ISCORAM 1st International School on the Characterisation of Organic Residues in Archaeological Materials – a. Focus on Ceramics
Αμβέρσα 9-14 Σεπτεμβρίου 2007	Euroanalysis XIV E. Kartsonaki , G. Stamatakis, U. Knutinen, D. Anglos, and A. Spyros, "NMR Spectroscopy Applications in the Analysis of Cultural Heritage Materials".
Αθήνα 27-30 Απριλίου 2009	TechnArt 2009 E. Kartsonaki , A. Perraki, U. Knutinen and A. Spyros, "Identification of natural waxes in Pompeii wall paintings by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy".
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	
2008	A. Erdem, A. Çilingiroglu, A. Giakoumaki, M. Castanys, E. Kartsonaki , D. Anglos and K. Fotakis. Characterization of Iron Age Pottery from Eastern Turkey by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). Journal of Archaeological Science, 35, 2486-94.
2010	I. D. McPhee and E. Kartsonaki , Red-figure pottery of uncertain origin from Corinth; Stylistic and Chemical Analysis, Hesperia, 79, 113-143.
<i>εν συγγραφή</i>	E. Kartsonaki , U. Knutinen and A. Spyros, Analysis of natural waxes used in works of art by NMR Spectroscopy; An application on wall paintings from Pompeii.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ

ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ

- Φασματοσκοπία Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού (**NMR**)
- Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (**ICP-AES**)
- Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης (**AAS**)
- Φασματοσκοπία Φθορισμού
- Φασματοσκοπία Υπέρυθρου (**FT-IR**)
- Περιθλασιμετρία Ακτίνων Χ (**XRD**)

ΓΝΩΣΕΙΣ

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

Λειτουργικά Συστήματα	Windows 95/98/2000/NT/XP/VISTA, UNIX, DOS
Επεξεργασία Δεδομένων	Microsoft Word/Excel/Access/PowerPoint, Microcal Origin
Στατιστική Ανάλυση	Statistica 6.0
Επεξεργασία Εικόνας	Adobe Photoshop, Paint Shop Pro
Σχεδιαστικά Πακέτα	Macromedia Freehand, Adobe Illustrator

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά	Άριστα
Γαλλικά	Άριστα
Ισπανικά	Πολύ καλά

CURRICULUM VITAE

PERSONAL INFORMATION

Name **Efpraxia**
Surname **Kartsonaki**
Address 15 Forsyth St, Fairfield, 4103 QLD, Australia
Telephone +61 7 3392 7759, +61 420 481769
E-mail efik@chemistry.uoc.gr, e.kartsonaki@gmail.com

Date of Birth 19th February 1976
Place of Birth Piraeus, Greece
Nationality Greek

EDUCATION

Jun 2007 – Jun 2012 **University of Crete**, Department of Chemistry
Doctor of Philosophy

Sep 2000 – Sep 2001 **University of Sheffield**, Department of Archaeology and Prehistory
MSc Archaeomaterials
With Distinction

Sep 1993 – Sep 2000 **University of Crete**, Department of Chemistry
BSc Chemistry

WORK

EXPERIENCE

Jan 2003 - Jan 2006 **British School at Athens**, Fitch Laboratory
Archaeological Chemistry Fellow
Chemical Analysis (with the use of ICP-AES) of archaeological ceramic and bronze artefacts for the projects of the laboratory.

Sep 2001 - May 2002 **University of Sheffield**, Department of Archaeology and Prehistory
Research Assistant
Within the European TMR Network GEOPRO. General assistance, administrative scientific, to the Network's coordinating partner (University of Sheffield).

Jun - Aug 1999 **I.M.B.C** (Institute of Marine Biology of Crete, now known as Hellenic Centre for Marine Research)

Research Assistant

Within the students training programme of the University of Crete. Analysis of heavy metals (Cu, Cr, Pb, and Cd) from marine sediments from the north coast of Crete using Atomic Absorption Spectrometry.

SCOLARSHIPS

1998 **European Programme “Socrates”**

Nine-month scholarship granted by the student exchange European Programme “Socrates”, for the completion of a BSc dissertation in France (Université de Paris-Sud (Paris XI), Institut de Chimie Moléculaire d’Orsay, Laboratoire de Chimie Biorganique et Bioinorganique)

1993-1994 **Foundation of National Scholarships (IKY)**

Annual scholarship awarded for the achievement of the highest score for the admission in the Department of Chemistry, University of Crete.

THESES

PhD Thesis “Development of a Methodology for the Analysis of Organic Materials in Archaeological and Historical Objects with the Use of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy”

MSc Thesis “Examination of Low-Fired Calcareous and Non-Calcareous Clays: A Proposal for Firing Temperature Estimation of Low-Fired Archaeological Ceramics”

BSc Thesis “Synthèse de Biocapteurs de Fer à Activité Biologique”
(Synthesis of Iron Biosensors)

CONFERENCES

Athens **4th Symposium of Archaeometry**
28-31 May 2003 E. Kiriati, A. Tsolakidou, **E. Kartsonaki**, A. Pentedeka, I.K. Whibread and W. Gauss, “An Interdisciplinary Study of Bronze Age Pottery Production and Supply at Kolonna, Aegina”

British School at Athens **Upper House Seminar**
28 February 2005 **E. Kartsonaki**, “Entangling Chemical Variability in Ancient Pottery Studies; An Illustration from Bronze Age Aegina”

Bradford 13-16 April 2005	UK Archaeological Science 2005 Conference E. Kartsonaki , E. Kiriati, A. Pentedeka and W. Gauss, "Through the Hands of the Potter to the Birth of a Pot; Reconstructing Pottery Making in Bronze Age Aegina, Central Aegean" J. Hilditch, E. Kartsonaki , E. Kiriati and K. Psaraki, "Out with the Old in with the New; Establishing Local Traditions and Emerging Trends within the Ceramic Assemblage of Early Bronze Age II Thebes, Central Greece"
Lisbon 25-28 April 2007	TechnArt 2007 E. Kartsonaki , A. Spyros and D. Anglos, "Characterization of Terpenoid Resin Varnishes Used in Artworks by NMR Spectroscopy"
Grosseto (Italy) 24-19 June 2007	1st - ISCORAM 1st International School on the Characterisation of Organic Residues in Archaeological Materials – a. Focus on Ceramics
Antwerp 9-14 September 2007	Euroanalysis XIV E. Kartsonaki , G. Stamatakis, U. Knuutinen, D. Anglos, and A. Spyros, "NMR Spectroscopy Applications in the Analysis of Cultural Heritage Materials".
Athens 27-30 April 2009	TechnArt 2009 E. Kartsonaki , A. Perraki, U. Knuutinen and A. Spyros, "Identification of natural waxes in Pompeii wall paintings by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy".
PUBLICATIONS	
2008	A. Erdem, A. Çilingiroglu, A. Giakoumaki, M. Castanys, E. Kartsonaki , D. Anglos and K. Fotakis. Characterization of Iron Age Pottery from Eastern Turkey by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). Journal of Archaeological Science, 35, 2486-94.
2010	I. D. McPhee and E. Kartsonaki , Red-figure pottery of uncertain origin from Corinth; Stylistic and Chemical Analysis, Hesperia, 79, 113-143.
<i>in preparation</i>	E. Kartsonaki , U. Knuutinen and A. Spyros, Analysis of natural waxes used in works of art by NMR Spectroscopy; An application on wall paintings from Pompeii.

TECHNICAL SKILLS

- Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (**NMR**)
- Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (**ICP-AES**)
- Atomic Absorption Spectroscopy (**AAS**)
- Fluorescence Spectroscopy
- Infra-Red Spectroscopy (**FT-IR**)
- X-Ray Diffraction (**XRD**)

IT SKILLS

Operational Systems	Windows 95/98/2000/NT/XP/VISTA, UNIX, DOS
Data Processing	Microsoft Word/Excel/Access/PowerPoint, Microcal Origin
Statistical Analysis	Statistica 6.0
Image Analysis	Adobe Photoshop, Paint Shop Pro
Design	Macromedia Freehand, Adobe Illustrator

FOREIGN LANGUAGES

English	Fluent
French	Fluent
Spanish	Intermediate

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	I
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	III
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	V
ABSTRACT	VII
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	IX
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	XIV
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Η ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΟΜΕΤΡΙΑ	1
1.2 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ	3
1.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (NMR)	6
1.4 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	8
2 ΦΥΣΙΚΟΙ ΚΗΡΟΙ ΚΑΙ ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ: ΓΕΝΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ	10
2.1 ΚΗΡΟΙ	10
2.1.1 ΚΗΡΟΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ	12
2.1.2 ΚΗΡΟΣ ΚΑΡΝΑΟΥΜΠΑ	16
2.1.3 ΚΗΡΟΣ ΚΑΝΤΕΛΙΛΛΑ	19
2.2 ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	21
2.2.1 ΔΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	22
2.2.2 ΤΡΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	25
2.2.3 ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	27
3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	28
3.1 ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ	28
3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ NMR	30
3.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ^1H NMR	30
3.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ^{13}C NMR	30
3.2.3 ΟΜΟΠΥΡΗΝΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ^1H - ^1H gCOSY	31
3.2.4 ΕΤΕΡΟΠΥΡΗΝΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ^1H - ^{13}C gHMQC	32
3.2.5 ΕΤΕΡΟΠΥΡΗΝΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ^1H - ^{13}C gHMBC	33

4	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Α. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	34
4.1	ΚΗΡΟΙ	34
4.1.1	ΚΗΡΟΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ	34
4.1.2	ΚΗΡΟΣ ΚΑΡΝΑΟΥΜΠΑ	42
4.1.3	ΚΗΡΟΣ ΚΑΝΤΕΛΙΛΛΑ	46
4.2	ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	49
4.2.1	ΔΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	49
4.2.1.1	Σανδαράχη	49
4.2.1.2	Κοπάλιο	54
4.2.2	ΤΡΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	58
4.2.2.1	Μαστίχη	58
4.2.2.2	Δάμμαρη	62
4.2.3	ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ	65
4.2.3.1	Σέλακ (γομμαλάκα)	65
5	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Β. ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	68
5.1	ΤΟΙΧΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΙΚΙΑ ΤΟΥ ΜΑΡΚΟΥ ΛΟΥΚΡΗΤΙΟΥ, ΠΟΜΠΗΙΑ	69
5.2	ΈΡΓΑ ΖΩΓΡΑΦΙΚΗΣ	75
5.2.1	ΤΕΣΣΕΡΑ ΕΡΓΑ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΚΑΛΛΙΤΕΧΝΩΝ	75
5.2.2	«Η ΒΑΠΤΙΣΗ ΤΟΥ ΧΡΙΣΤΟΥ», ΔΟΜΗΝΙΚΟΣ ΘΕΟΤΟΚΟΠΟΥΛΟΣ (1568-1570 Μ.Χ.)	79
6	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	85
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	87
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	101

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Φτάνοντας στο τέλος του διδακτορικού μου, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Απόστολο Σπύρο, για την άψογη συνεργασία, την επιστημονική καθοδήγηση, τη συμπαράσταση και την εμπιστοσύνη που μου έχει δείξει όλα αυτά τα χρόνια, αλλά και για τη «μύηση» στη φασματοσκοπία NMR.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ένθερμα στον καθηγητή Δημήτρη Άγγλο, για την ενθάρρυνση του στο ξεκίνημα του διδακτορικού μου, την οικονομική στήριξη μέσω του Ινστιτούτου Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ, ΙΤΕ, για τα πρότυπα δείγματα ρητινών και βερνικιών από έργα ζωγραφικής, αλλά κυρίως για ό,τι έχει προσφέρει σε μένα προς απόκτηση γνώσεων, κάνοντας με να νιώθω ότι είναι τιμή μου να τον έχω γνωρίσει.

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω τον καθηγητή Φώτη Νταή, που δέχτηκε να συμμετάσχει στην τριμελή επιτροπή του διδακτορικού μου, αλλά και για τη συμπαράσταση των μελών του εργαστηρίου του, και κυρίως το Μανόλη Χατζάκη για τις συζητήσεις μας περί ερευνητικών ανησυχιών και μη.

Ήταν μεγάλη μου τιμή να δεχτώ τα λεπτομερή σχόλια και τις διορθώσεις του καθηγητή Χαράλαμπου Κατερινόπουλου, ως μέλος της επταμελούς μου επιτροπής. Χαίρομαι ιδιαίτερα που μου δίνεται η ευκαιρία να τον ευχαριστήσω για τις εμπνευσμένες διαλέξεις στα προπτυχιακά μας μαθήματα, καθώς σε αυτόν μάλλον οφείλω την αγάπη μου για την οργανική χημεία.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους καθηγητές Νικόλαο Χανιωτάκη, Σπυρίδωνα Περγαντή και Κωνσταντίνο Δημάδη που ως μέλη της επταμελούς μου επιτροπής δέχτηκαν να κρίνουν το διδακτορικό μου, καθώς και το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης που με δέχτηκε ως υποψήφια διδάκτορα.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω τη Dr Ulla Knutinen από το Helsinki Metropolia University of Applied Sciences, καθώς και την ομάδα EPUH (Expeditio Pompeiana Universitatis Helsingiensis) για τα πρότυπα δείγματα κεριών και για τα δείγματα τοιχογραφιών από την ανασκαφή στην Πομπηία.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω το Δρ Μιχαήλ Δουλγερίδη από την Εθνική Πινακοθήκη για τα δείγματα βερνικιών από τα έργα ζωγραφικής αγνώστων καλλιτεχνών που μας διατέθηκαν, καθώς και το συντηρητή κύριο Στέργιο Στασινόπουλο από το εργαστήριο συντήρησης του Μουσείου Μπενάκη για τα δείγματα βερνικιού από τον πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού» του Δομήνικου Θεοτοκόπουλου.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την ομάδα του εργαστηρίου μας, και συγκεκριμένα τη Σοφία Σφακιανάκη και τη Βίβιαν Μάρα για την αισιόδοξη διάθεση που έφεραν στο εργαστήριο, αλλά και για τη βοήθεια τους όταν τις χρειάστηκα.

Πολλά ευχαριστώ οφείλονται επίσης και στα μέλη του Ινστιτούτου Ηλεκτρονική Δομής και Λείζερ Βιβή Πουλή, που μοιράστηκε το γραφείο της μαζί μου, και Αλίνα Μελεσανάκη, για την πολύτιμη βοήθειά της κατά τη δειγματοληψία βερνικιών από τους πίνακες.

Ευχαριστώ επίσης την πολυαγαπημένη φίλη μου Κρίστη Δαμηλάτη που, ως αρχαιολόγος, έχει συμβάλει στην κατανόηση μου της αρχαιολογικής επιστήμης, καθώς και της χρησιμότητας των χημικών αναλύσεων στην αρχαιολογία. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου για τη συμπαράσταση τους καθόλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Και τέλος, ευχαριστώ το σύντροφο μου Μαρκ, γιατί χωρίς τη συμπαράσταση και την αγάπη του αυτή η εργασία δεν θα έφτανε ποτέ στο τέλος της.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή διερευνάται η ανάπτυξη μεθοδολογίας για την ανάλυση οργανικών υλικών σε αρχαιολογικά και ιστορικά αντικείμενα με τη φασματοσκοπία μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού NMR. Η ταυτοποίηση οργανικών υλικών σε αντικείμενα αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος περιλαμβάνονται στον κλάδο της αρχαιομετρίας και δίνει σημαντικές πληροφορίες για την κατασκευή και χρήση των προς μελέτη αντικειμένων. Με τον όρο αρχαιομετρία έχει ονομαστεί ο διεπιστημονικός κλάδος που αντλεί τα εργαλεία του από τεχνικές διαθέσιμες στις φυσικές επιστήμες και βρίσκει εφαρμογή σχεδόν σε όλους τους τομείς της αρχαιολογίας, αλλά και της ιστορίας και συντήρησης της τέχνης.

Ο προσδιορισμός των οργανικών υλικών σε αρχαιολογικά και ιστορικά αντικείμενα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκος. Η πολυπλοκότητα που παρατηρείται οφείλεται κυρίως σε τρεις παράγοντες. Πρώτον, τα οργανικά υλικά που χρησιμοποιούνταν κατά τις χρονικές περιόδους που ενδιαφέρουν την αρχαιολογία και την ιστορία περιλαμβάνουν αποκλειστικά φυσικά προϊόντα, τα οποία αποτελούνται από μίγματα οργανικών ενώσεων. Δεύτερον, συχνά οι τεχνίτες του παρελθόντος αναμίγνυαν υλικά για να επιτύχουν τις συγκεκριμένες ιδιότητες που επιθυμούσαν, προσθέτοντας έτσι ένα ακόμα επίπεδο πολυπλοκότητας στο μίγμα. Τέλος, με την πάροδο του χρόνου, τα υλικά υφίστανται παλαιώση/γήρανση, και συγκεκριμένα αλλοιώσεις που περιλαμβάνουν την οξείδωση, υδρόλυση, διάσπαση, πολυμερισμό, κτλ, των μορίων που περιέχονται σε αυτά, καθιστώντας έτσι δύσκολο τον προσδιορισμό των αρχικών υλικών που είχαν χρησιμοποιηθεί στο αρχαιολογικό/ιστορικό δείγμα.

Η αναλυτική τεχνική που επιλέχθηκε για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης είναι η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR. Αν και αποτελεί μια ισχυρή και αποτελεσματική μέθοδο για το μοριακό προσδιορισμό οργανικών υλικών, καθώς τα δισδιάστατα 2D ομοπυρηνικά και ετεροπυρηνικά πειράματα NMR επιτρέπουν τον προσδιορισμό οργανικών μορίων σε ένα μίγμα χωρίς να έχει υπάρξει προηγουμένως διαχωρισμός των συστατικών τους, η χρήση της στην αρχαιομετρία είναι ελάχιστα διαδεδομένη. Τα κύρια πλεονεκτήματα που παρουσιάζει έναντι άλλων

μεθόδων μοριακής ανάλυσης οργανικών υλικών περιλαμβάνουν, την πειραματική απλότητα κατά την προετοιμασία του δείγματος και το μη καταστρεπτικό χαρακτήρα ως προς το δείγμα, καθώς ανακτάται πλήρως μετά το πέρας των πειραμάτων.

Για τους σκοπούς της παρούσας διατριβής επιλέχθηκαν δύο ομάδες φυσικών οργανικών υλικών, που θα μπορούσαν να είχαν χρησιμοποιηθεί από τεχνίτες του παρελθόντος κατά την παρασκευή υλικού πολιτισμού ως δείγματα αναφοράς. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από φυσικούς φυτικούς και ζωικούς κηρούς, ενώ η δεύτερη από φυσικές, τερπενοειδείς ρητίνες,. Σκοπός της εργασίας ήταν να αναλυθούν όλα τα δείγματα ρητινών και κεριών με μονοδιάστατα (1D) και δισδιάστατα (2D) πειράματα NMR, ώστε να καταστεί δυνατή η ταυτοποίηση συγκεκριμένων ενώσεων – δεικτών (markers) στο κάθε δείγμα, χαρακτηριστικές του εκάστοτε υλικού. Ο τελικός σκοπός των πειραμάτων ήταν ο προσδιορισμός των ενώσεων αυτών, και άρα των υλικών, ρητίνες ή κεριά στη συγκεκριμένη περίπτωση, σε αρχαιολογικά και ιστορικά δείγματα. Στη συνέχεια αναλύθηκαν μια σειρά από δείγματα αρχαιολογικών τοιχογραφικών από την Πομπηία, καθώς και πιο πρόσφατων έργων ζωγραφικής, όπου επιτεύχθηκε η ταυτοποίηση συγκεκριμένων οργανικών υλικών στα δείγματα.

Λέξεις κλειδιά: Φασματοσκοπία, πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός, αρχαιομετρία, φυσικά κεριά, τερπενοειδείς ρητίνες

ABSTRACT

The purpose of this study was the development of a methodology for the analysis of organic materials in archaeological and historical objects with the use of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy. The identification of organic materials from archaeological and historical contexts pertains to the wider research area of archaeometry and gives rise to important information regarding the manufacture and use of the artefacts under scrutiny. Archaeometry is an interdisciplinary field that draws analytical tools from the physical sciences in order to answer context-specific questions within the framework of archaeological, historical, as well as conservation science research.

The analysis and identification of organic materials presents with a particularly complex and demanding task. The observed complexity is due to three main factors. Firstly, the organic materials used during the time period of interest for archaeology and history consist of entirely natural products, which usually include complex mixtures of organic molecules. On the other hand, past craftsmen and artists often mixed materials in order to achieve the desired properties, adding thus an additional level of complexity to the composition of the mixture. Lastly, with the passing of time and ageing, the molecules involved are altered through oxidisation, hydrolysis, polymerisation, and/or fragmentation, rendering the identification of the original materials used in the archaeological/historical objects a mostly difficult task.

For the purposes of this study the chosen analytical technique was NMR spectroscopy. Even though it comprises a very powerful and effective method for the molecular characterisation of organic materials, since with the use of 2D homonuclear and heteronuclear NMR experiments it is possible to identify organic molecules in a complex mixture without prior separation of its contents, it is clearly underrepresented within the archaeometric studies. The advantages it presents compared to other techniques include the experimental simplicity during sample preparation, as well as the non-destructive character regarding the sample, as it is retrieved quantitatively at the end of the experiment.

For the purposes of this study two groups of materials were chosen, which are known to have been used by past craftsmen and artists in the archaeological/historical record, as reference samples. The first group consists of natural animal and plant waxes and the second includes natural terpenoid resins. The aim of the study was to analyse all the wax and resin samples with one-dimensional (1D) and two-dimensional (2D) NMR experiments, in order to identify specific molecules – markers characteristic of each material. The second part of the study involved the analysis of samples from wall paintings from Pompeii, as well as varnish layers from paintings, where the identification of organic materials was made possible with the use of NMR Spectroscopy.

Key words: Spectroscopy, nuclear magnetic resonance, NMR, archaeometry, natural waxes, terpenoid resins

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2.1: Εστέρας λιπαρών οξέων με ανώτερες αλκοόλες, κύριο συστατικό των κεριών_	10
Σχήμα 2.2: Δις εστεροποιημένος ω-1 υδροξυεστέρας, συστατικό κηρού μέλισσας_____	13
Σχήμα 2.3: Δις εστεροποιημένη ω-1 διόλη, συστατικό κηρού μέλισσας_____	14
Σχήμα 2.4: Τριεστέρας σε κηρό μέλισσας _____	14
Σχήμα 2.5: Τριεστέρας σε κηρό μέλισσας _____	14
Σχήμα 2.6: ω-ύδροξυ εστέρες στον κηρό καρνάουμπα _____	17
Σχήμα 2.7: ρ-ύδροξυ και ρ-μέθοξυ κινναμικό οξύ _____	17
Σχήμα 2.8: Διεστέρας κηρού καρνάουμπα (R = H ή CH ₃)_____	18
Σχήμα 2.9: Καρναουμπαδιόλη, τριτερπενικό συστατικό του κηρού καρνάουμπα _____	18
Σχήμα 2.10: Λουπεόλη, τριτερπενικό συστατικό του κηρού καντέλιλλα_____	20
Σχήμα 2.11: Ισοπρένιο (2-μέθυλο-1, 3 βουταδιένιο)_____	21
Σχήμα 2.12: Λαβδανικές ενώσεις των ρητινών των ψυχανθών _____	22
Σχήμα 2.13: Αβιεταδιενικά και πιμαραδιενικά οξέα των ρητινών των κωνοφόρων δέντρων	23
Σχήμα 2.14: Λαβδανικές ενώσεις των ρητινών των κωνοφόρων δέντρων _____	24
Σχήμα 2.15: Ενώσεις δαμμαρανίου και ευφανίου _____	25
Σχήμα 2.16: Ενώσεις του ολεανίου και του ουρσανίου _____	26
Σχήμα 2.17: Αλειφατικά και σεσκιτερπενικά οξέα της ρητίνης γομμαλάκα _____	27
Σχήμα 3.1: Ακολουθία παλμών gCOSY ομοπυρηνικού συστήματος σπιν. Οι παλμοί (90°) απεικονίζονται με σκιασμένα παραλληλόγραμμα, ενώ οι παλμοί βαθμωτών πεδίων με λευκά παραλληλόγραμμα. _____	31
Σχήμα 3.2: Ακολουθία παλμών πειράματος ¹ H- ¹³ C gHMQC, όπου φαίνονται οι παλμοί των 90° (π/2) και των 180° (π). Κατά την περίοδο ανίχνευσης t ₂ ακολουθεί αποσύζευξη ευρείας ζώνης (decoupling) για το πρωτόνιο. _____	32
Σχήμα 3.3: Ακολουθία παλμών πειράματος ¹ H- ¹³ C gHMBC, όπου φαίνονται οι παλμοί των 90° (π/2) και των 180° (π). Δεν υφίσταται αποσύζευξη για το πρωτόνιο σ' αυτή την περίπτωση. _____	33
Σχήμα 4.1: Ανάθεση κορυφών ¹ H NMR εστέρων κηρού μέλισσας _____	35
Σχήμα 4.2: Φάσμα ¹ H NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl ₃), όπου φαίνεται σε μεγέθυνση η περιοχή 3.5-5.5 ppm. _____	35
Σχήμα 4.3: Φάσμα ¹ H- ¹ H gCOSY 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl ₃)_____	37

Σχήμα 4.4: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται μεγεθυμένες οι περιοχές των καρβονυλίων, των διπλών δεσμών και των ανθράκων των αλκοολών.	38
Σχήμα 4.5: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	38
Σχήμα 4.6: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	39
Σχήμα 4.7: Κορυφές τριγλυκεριδίων στα φάσματα Α. ^1H NMR και Β. ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	40
Σχήμα 4.8: Φάσμα ^1H NMR κηρού καρνάουμπα, όπου φαίνεται η ανάθεση κορυφών <i>p</i> -υποκατεστημένου κινναμικού διεστέρα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	42
Σχήμα 4.9: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των αρωματικών πρωτονίων	43
Σχήμα 4.10: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	44
Σχήμα 4.11: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται οι συσχετίσεις των αρωματικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους	44
Σχήμα 4.12: Ανάθεση κορυφών Α. λουπεόλης και Β. εστέρα κηρού	46
Σχήμα 4.13: Φάσμα ^1H NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται κάποιες χαρακτηριστικές κορυφές της λουπεόλης	47
Σχήμα 4.14: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	47
Σχήμα 4.15: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	48
Σχήμα 4.16: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	48
Σχήμα 4.17: Φάσμα ^1H NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται τα βινυλικά πρωτόνια των διτερπενικών μορίων	50
Σχήμα 4.18: <i>Cis</i> (Α) και <i>trans</i> (Β) κομμουνικό οξύ, κύρια διτερπενικά συστατικά της ρητίνης σανδαράχης	50
Σχήμα 4.19: Αγαθολικό οξύ, συστατικό διτερπενικών ρητινών	51
Σχήμα 4.20: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των βινυλικών πρωτονίων του κομμουνικού οξέος (11, 12, 14, 15, 16) καθώς και χαρακτηριστικών πρωτονίων του αγαθολικού οξέος (19)	51

Σχήμα 4.21: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των πρωτονίων της διτερπενικής κυκλικής δομής	52
Σχήμα 4.22: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται οι συζεύξεις βινυλικών πρωτονίων του κομμουνικού οξέως με τους άνθρακες τους	53
Σχήμα 4.23: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	53
Σχήμα 4.24: Φάσμα ^1H NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	54
Σχήμα 4.25: Cis-οζικό (A) και κοπαλικό οξύ (B), κύρια διτερπενικά συστατικά της ρητίνης κοπάλιο	55
Σχήμα 4.26: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των βινυλικών πρωτονίων	55
Σχήμα 4.27: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των πρωτονίων της διτερπενικής κυκλικής δομής	56
Σχήμα 4.28: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται οι συζεύξεις βινυλικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους	57
Σχήμα 4.29: Φάσμα ^1H NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	59
Σχήμα 4.30: Μαστιχαδιενονικό οξύ, χαρακτηριστικό τριτερπενικό συστατικό της ρητίνης μαστίχη	59
Σχήμα 4.31: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται κορυφές του μαστιχαδιενονικού οξέος	60
Σχήμα 4.32: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6, όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές του μαστιχαδιενονικού οξέος	60
Σχήμα 4.33: 1, 4 πολύ – β-μυρκένιο πολυμερισμένο μονοτερπένιο, συστατικό τριτερπενοειδών ρητινών	61
Σχήμα 4.34: Φάσμα ^1H NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	62
Σχήμα 4.35: Δαμμαραδιενόλη, ένα από τα κύρια τριτερπενικά συστατικά της ρητίνης δάμμαρη	63

Σχήμα 4.36: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)	63
Σχήμα 4.37: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των βινυλικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους	64
Σχήμα 4.38: Πολυεστέρας του 9,10,16 τριυδροξυ-παλμιτικού οξέος με το σελλολικό οξύ, συστατικό της ρητίνης σέλακ	65
Σχήμα 4.39: Φάσμα ^1H NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	66
Σχήμα 4.40: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	67
Σχήμα 4.41: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6	67
Σχήμα 5.1: Φάσμα ^1H NMR του δείγματος 1/14 του 4 ^{ου} Ρυθμού	70
Σχήμα 5.2: ^1H NMR δείγματος 8/10 του 4 ^{ου} Ρυθμού	71
Σχήμα 5.3: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR A. του δείγματος 8/10 του 4 ^{ου} Ρυθμού και B. δείγματος κηρού μέλισσας.	72
Σχήμα 5.4: ^1H NMR δείγματος Green A 2 ^{ου} Ρυθμού	73
Σχήμα 5.5: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος Green A 2 ^{ου} Ρυθμού	74
Σχήμα 5.6: Φάσματα ^1H NMR δειγμάτων βερνικιών από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» και τις εικόνες «Αγία Βαρβάρα», «Άγιος Τρύφων» και «Αγία Τριάδα»	76
Σχήμα 5.7: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από την εικόνα «Άγιος Τρύφωνα» και δύο διαφορετικών τύπων ρητίνης σέλακ	77
Σχήμα 5.8: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» και δύο διτερπενικών ρητινών, της σανδαράχης και του κοπαλίου	78
Σχήμα 5.9: Φάσματα ^1H NMR των δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η βάπτισή του Χριστού»	79
Σχήμα 5.10: Φάσματα ^1H NMR δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η βάπτισή του Χριστού» καθώς και γηρασμένου λινέλαιου	80
Σχήμα 5.11: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δύο δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η Βάπτισή του Χριστού» και της ρητίνης σέλακ	81
Σχήμα 5.12: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Η Βάπτισή του Χριστού», όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές ελαίων και ρητίνης σέλακ	82

Σχήμα 5.13: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Η Βάπτιση του Χριστού», όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές ελαίων και ρητίνης σέλακ _____ 82

Σχήμα 5.14: Παράγοντας γήρανσης στα έλαια που ανιχνεύτηκαν στον πίνακα «Η Βάπτιση του Χριστού» _____ 84

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1: Σύσταση κηρού μέλισσας _____	12
Πίνακας 2.2: Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού μέλισσας _____	13
Πίνακας 2.3: Σύσταση κηρού καρνάουμπα _____	16
Πίνακας 2.4: Φυσικοχημικές ιδιότητες του κηρού καρνάουμπα _____	16
Πίνακας 2.5: Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού καντέλιλλα _____	19
Πίνακας 4.1: Χημικές μετατοπίσεις (δ) και ανάθεση των κυρίων κορυφών στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR κηρού μέλισσας _____	41
Πίνακας 4.2: Χημικές μετατοπίσεις (δ) και ανάθεση των κυρίων κορυφών στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR κηρού καρνάουμπα _____	45
Πίνακας 5.1: Δείγματα τοιχογραφιών Τέταρτου Ρυθμού _____	69
Πίνακας 5.2: Δείγματα τοιχογραφιών Δεύτερου Ρυθμού _____	72
Πίνακας 5.3: Χαρακτηριστικά έργων ζωγραφικής προς ανάλυση _____	75

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η Αναλυτική Χημεία στην Αρχαιομετρία

Η παρούσα διατριβή θα πραγματευτεί την εφαρμογή της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) στην ανάλυση οργανικών υλικών αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος. Αρχικά θα ήθελα να αναπτύξω εν συντομία το ρόλο και τις εφαρμογές που μπορεί να έχει η αναλυτική χημεία στους χώρους της ιστορίας και της αρχαιολογίας, οι οποίες, όπως είναι γνωστό, ανήκουν στις ανθρωπιστικές ή θεωρητικές επιστήμες, με αντικείμενο τη μελέτη των κοινωνιών του παρελθόντος μέσω της συστηματικής συγκέντρωσης και ανάλυσης τεκμηρίων του υλικού πολιτισμού τους. Η δημοφιλής αντίληψη περί αρχαιολογίας σαν επιστήμη είναι συνυφασμένη με την αναζήτηση, συλλογή, καταγραφή και ταξινόμηση του αρχαιολογικού υλικού. Κι ενώ είναι αλήθεια πως ξεκίνησε σαν μια μάλλον περιγραφική επιστήμη, η οποία εστίαζε κατά κύριο λόγο σε θέματα χρονολόγησης, περιγραφής και ένταξης των αντικειμένων σε κατηγορίες με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, σήμερα έχει εξελιχθεί σε ερμηνευτική επιστήμη υιοθετώντας μια περισσότερο διεπιστημονική προσέγγιση του υλικού πολιτισμού με στόχο την

ερμηνεία των κοινωνικών και οικονομικών δομών των κοινωνιών του παρελθόντος. Επιτεύγματα τόσο των φυσικών όσο και των θεωρητικών επιστημών αποτελούν πολύτιμους αρωγούς στην ανασύνθεση του παρελθόντος.

Το ενδιαφέρον των φυσικών επιστημόνων για τα αρχαιολογικά αντικείμενα και υλικά ανάγεται στον 18^ο αιώνα, εποχή που χαρακτηρίζεται από ραγδαίες εξελίξεις στις θετικές επιστήμες και τις εφαρμογές τους (1). Καθώς εμφανίζονται οι σύγχρονες για την εποχή αναλυτικές μέθοδοι, η εφαρμογή τους από την ανάλυση πετρωμάτων και μεταλλευμάτων στην ανάλυση αρχαίων αντικειμένων ακολούθησε ως φυσική εξέλιξη. Η πρώτη εργασία παρουσιάστηκε τον Ιούλιο του 1795 από τον Martin Heinrich Klaproth στη Βασιλική Ακαδημία Επιστημών και Γραμμάτων του Βερολίνου και περιελάμβανε τον καθορισμό της χημικής σύστασης ελληνικών και ρωμαϊκών νομισμάτων, και ενός συνόλου από μεταλλικά και γυάλινα ρωμαϊκά αντικείμενα.

Σχεδόν δύομιση αιώνες αργότερα, η αρχαιομετρία έχει εξελιχθεί σε ένα διεπιστημονικό κλάδο που αντλεί τα εργαλεία του από τις πολυάριθμες τεχνικές διαθέσιμες στις φυσικές επιστήμες, όπως η χημεία, η γεωλογία και η βιολογία, και βρίσκει εφαρμογή σχεδόν σε όλους τους τομείς της αρχαιολογίας, αλλά και της ιστορίας και συντήρησης της τέχνης. Τα αρχαιολογικά και ιστορικά ερωτήματα που καλείται να απαντήσει περιλαμβάνουν τον εντοπισμό προέλευσης και διακίνησης πρώτων υλών και τελικών προϊόντων, τη διερεύνηση αρχαίων τεχνολογιών και τεχνικών, την εξέταση των διατροφικών συνηθειών του ανθρώπου, τη μελέτη και ανασύσταση του παλαιοπεριβάλλοντος, τον εντοπισμό θαμμένων αρχαιολογικών θέσεων, τη χρονολόγηση αντικειμένων και ανασκαφικών στρωμάτων και ευρημάτων, την ανάπτυξη τεχνικών για την αποκατάσταση και συντήρηση μνημείων, την ανάπτυξη διατάξεων για το μη καταστρεπτικό χαρακτηρισμό υλικών, καθώς και τον έλεγχο αυθεντικότητας μνημείων και έργων τέχνης.

Η ραγδαία ανάπτυξη και ένταξη των φυσικών επιστημών στο χώρο της αρχαιολογίας, καθώς και η καθιέρωση της αρχαιομετρίας ως επιστήμη έδωσε έναυσμα για την εμφάνιση εργασιών από το χώρο της θεωρητικής αρχαιολογίας με θέμα τη διερεύνηση του ρόλου της αρχαιομετρίας στις αρχαιολογικές και ιστορικές επιστήμες (2) - (4), ώστε οι αναλυτικές προσεγγίσεις στον υλικό πολιτισμό να είναι ουσιώδεις. Είναι σημαντικό κάθε ερευνητικό πρόγραμμα να είναι σχεδιασμένο έτσι

ώστε να λαμβάνει υπόψη το αρχαιολογικό πρόβλημα και/ή ερώτημα που υπάρχει την εκάστοτε στιγμή και λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό πλαίσιο να αποφεύγονται άσκοπες αναλύσεις, χωρίς καμία συνεισφορά στην αρχαιολογική/ιστορική γνώση.

1.2 Αναλύσεις Οργανικών Υλικών

Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας θα εστιάσουμε στη μελέτη οργανικών υλικών που είναι συνυφασμένα με τον υλικό πολιτισμό. Συγκεκριμένα, τα οργανικά υλικά που ενδιαφέρουν την αρχαιολογία και την ιστορία της τέχνης αποτελούν είτε υλικά που προστέθηκαν σε αντικείμενα από τους δημιουργούς τους, είτε υλικά που προσροφήθηκαν στα αντικείμενα μέσω της χρήσης τους, ή υλικά που μεταφέρθηκαν στα αντικείμενα από τον περιβάλλοντα χώρο όπου εναποτέθηκαν κατά την απόσυρσή τους. Σε κάθε περίπτωση ο προσδιορισμός τους δίνει πληροφορίες αντίστοιχα είτε για την κατασκευή του αντικειμένου, συνεισφέροντας έτσι στη διερεύνηση αρχαίων τεχνολογιών και τεχνικών, είτε για τη χρήση του, ή για το χώρο χρήσης και απόσυρσης του.

Η ανάλυση των οργανικών υλικών αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος παρουσιάζει μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητας, που μπορεί να διαχωριστεί σε δύο κατηγορίες: ενδογενής και εξωγενής. Ενδογενής μπορεί να χαρακτηριστεί η πολυπλοκότητα που εισάγεται από τη φύση των δειγμάτων, καθώς τα υλικά που χρησιμοποιούνταν κατά τις χρονικές περιόδους που ενδιαφέρουν την αρχαιολογία και την ιστορία περιλαμβάνουν αποκλειστικά φυσικά προϊόντα, τα οποία αποτελούνται ως επί το πλείστον από περίπλοκα μίγματα οργανικών μορίων. Η εξωγενής πολυπλοκότητα έχει δύο πηγές. Η πρώτη είναι ανθρωπογενής, καθώς οι τεχνίτες του παρελθόντος συνήθιζαν να αναμιγνύουν υλικά προκειμένου να επιτύχουν συγκεκριμένες επιθυμητές ιδιότητες στο τελικό προϊόν. Επιπλέον, μια δεύτερη πηγή ανθρωπογενών αλλοιώσεων στα αρχικά υλικά μπορεί να εισαχθεί από τους μελετητές και συντηρητές των αντικειμένων μέσω των αναλύσεων/συντηρήσεων που κάνουν σε αυτά (5). Η δεύτερη είναι περιβαλλοντολογική, καθώς, με την πάροδο του χρόνου, ανάλογα με τις περιβαλλοντολογικές συνθήκες στις οποίες βρίσκονται, τα υλικά υφίστανται παλαιώση/γήρανση, και πιο συγκεκριμένα αλλοιώσεις που περιλαμβάνουν την οξειδωση, υδρόλυση, διάσπαση, πολυμερισμό, κτλ, των μορίων

που περιέχονται σε αυτά, καθιστώντας έτσι δύσκολο τον προσδιορισμό των αρχικών υλικών που είχαν χρησιμοποιηθεί στο αρχαιολογικό/ιστορικό δείγμα.

Η πληθώρα των πληροφοριών που μπορεί να δώσει ο προσδιορισμός των οργανικών υλικών, καθώς και η αδιαμφισβήτητη χρησιμότητά του στους χώρους της αρχαιολογίας και της ιστορίας έχει φέρει πολυάριθμες μελέτες με το θέμα αυτό. Η εργασία που σηματοδότησε την αρχή για τις εφαρμογές των σύγχρονων αναλυτικών τεχνικών στις αναλύσεις οργανικών αρχαιολογικών υλικών είχε ως θέμα τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης στο περιβόητο «βούτυρο των βάλτων» (bog butter) με αέρια χρωματογραφία (6). Το «βούτυρο των βάλτων» είναι ένα λιπαρό, κηρώδες, άμορφο προϊόν, το οποίο έχει βρεθεί θαμμένο μέσα σε ξύλινα δοχεία σε διάφορες θέσεις στους τυρφώδεις βάλτους της Ιρλανδίας και της Σκωτίας. Πιστεύεται πως το θάψιμο στην τύρφη αποτελούσε μια τακτική συντήρησης τροφίμων, καθώς οι αναερόβιες συνθήκες που επικρατούν σε αυτό το περιβάλλον, καθώς και οι χαμηλές θερμοκρασίες, εμποδίζουν τη βακτηριδιακή αποσύνθεση των ζωικών προϊόντων. Για τα επόμενα 25 χρόνια ακολούθησε μια σειρά εργασιών και δημοσιεύσεων με θέμα τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης οργανικών κατάλοιπων σε αντικείμενα από αρχαιολογικές θέσεις (7)-(19), οι οποίες έθεσαν το εμπειρικό και πειραματικό πλαίσιο για μια συστηματική ανάπτυξη μεθοδολογιών και πειραματολογιών για την αντιμετώπιση των προβλημάτων που θέτει η ανάλυση οργανικών υλικών αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος. Απόρροια των παραπάνω εργασιών ήταν και η ανάπτυξη της έννοιας του αρχαιολογικού βιοδείκτη (*Archaeological Biomarker Concept*, για επισκόπηση της εξέλιξης της έννοιας και της χρήσης της βλέπε (20)). Η έννοια του αρχαιολογικού βιοδείκτη συμπεριλαμβάνει τα μόρια που δύναται να ανιχνευτούν μέσω του μοριακού προσδιορισμού ενός δείγματος και είναι ενδεικτικά των αρχικών προϊόντων στα οποία περιέχονται. Η χρήση του αρχαιολογικού βιοδείκτη είναι ανάλογη με τη χρήση των βιοδεικτών σε άλλα πεδία έρευνας, όπως η οργανική γεωχημεία, όπου τα κατάλοιπα σκελετών ζώων υπό εξαφάνιση αντανακλούν το είδος των ζώων που υπήρχαν στο παλαιοπεριβάλλον της εκάστοτε γεωλογικής περιόδου. Γνωρίζοντας πως τα αρχικά προϊόντα που προσδιορίζονται έχουν προστεθεί στα προς ανάλυση αρχαιολογικά/ιστορικά αντικείμενα από τον άνθρωπο, μπορούμε να πούμε πως στη συγκεκριμένη περίπτωση οι αναλύσεις των οργανικών υλικών αντικατοπτρίζουν την ανθρώπινη δράση/δραστηριότητα του παρελθόντος.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα οργανικών υλικών που ανιχνεύονται σε αρχαιολογικά και ιστορικά αντικείμενα που έχουν δημοσιευτεί τα τελευταία 17 χρόνια χρησιμοποιούν την έννοια του αρχαιολογικού βιοδείκτη περιλαμβάνουν το ζωικό λίπος και τα φυτικά έλαια (21)-(32), τα γαλακτοκομικά λιπαρά/προϊόντα (33)-(38), τα φυτικά κατάλοιπα, εκτός από τα λίπη, (39)-(42), τα ζωικά κατάλοιπα, εκτός από τα λίπη, (43)-(47), τα κατάλοιπα του κρασιού και των ποτών ζύμωσης (48)-(51), τα κηρώδη υλικά (52)-(55), τις ρητίνες (56)-(63), τις κόλες και τα συγκολλητικά υλικά (64)-(67), τα βάσαλμα και τις καλλυντικές πομάδες (68)-(71), τα συνδετικά μέσα σε έργα ζωγραφικής (72)-(73) και τα βερνίκια (74)-(78). Εκτός από τα παραπάνω παραδείγματα που αντικατοπτρίζουν ανθρώπινη δραστηριότητα μέσω της παραγωγής και χρήσης υλικού πολιτισμού, η έννοια του αρχαιολογικού βιοδείκτη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για αναλύσεις νουκλεοτιδίων (DNA) σε φυτικούς σπόρους και γύρη (79)-(80) με σκοπό την ανασύσταση του παλαιοπεριβάλλοντος, καθώς και για τον προσδιορισμό σταθερών ισοτόπων (άνθρακα) σε ζωικά και φυτικά κατάλοιπα (81)-(84) με σκοπό την ανασύσταση των διατροφικών συνηθειών του ανθρώπου στις κοινωνίες του παρελθόντος.

1.3 Φασματοσκοπία Μαγνητικού Πυρηνικού Συντονισμού (NMR)

Οι αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται κυρίως στο χώρο της αρχαιομετρίας για την ανάλυση οργανικών υλικών είναι οι χρωματογραφικές τεχνικές, με κύριο αντιπρόσωπο την αέρια χρωματογραφία (GC), καθώς και η φασματομετρία μάζας (MS). Παρόλο που έχουν χρησιμοποιηθεί και φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία υπέρυθρου (FT-IR) (85)-(86), Raman (87)-(89) και NMR, η χρήση τους είναι περιορισμένη.

Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας αποφασίσαμε να διερευνήσουμε τη δυνατότητα της χρήσης της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) ως αναλυτικό μέσο για την ανάλυση των οργανικών υλικών αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος. Αν και αποτελεί μια ισχυρή και αποτελεσματική μέθοδο για το μοριακό προσδιορισμό οργανικών ενώσεων, η χρήση της στην αρχαιομετρία είναι ελάχιστα διαδεδομένη, με το πλήθος των δημοσιεύσεων στο θέμα αυτό να μην υπερβαίνει τις 20 εργασίες (90)-(103) συμπεριλαμβάνοντας και πειράματα απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού (104)-(105). Είναι σημαντικό επίσης να αναφερθεί πως σε ελάχιστες από αυτές τις περιπτώσεις έχει γίνει μία συστηματική μελέτη των υλικών που χρησιμοποιούνταν κατά τις χρονικές περιόδους που αφορούν την αρχαιολογία και την ιστορία, ώστε να γίνει μια διερεύνηση της δυνατότητας αναγνώρισης και εφαρμογής μορίων-δεικτών (ή της έννοιας των αρχαιολογικών βιοδεικτών, όπως περιγράφηκαν παραπάνω) με τη φασματοσκοπία NMR.

Η γενική άποψη που επικρατεί στο χώρο της αρχαιομετρίας για την ανάλυση των οργανικών υλικών είναι πως η φασματοσκοπία NMR μπορεί να χρησιμεύσει μόνο ως μια αρχική προσέγγιση διαλογής και ένταξης των προς ανάλυση δειγμάτων σε ευρείες κατηγορίες, καθώς είναι δύσκολος ο μοριακός προσδιορισμός σε ένα δείγμα που αποτελεί ένα μίγμα μορίων (20), (106). Εντούτοις, τα δισδιάστατα 2D ομοπυρηνικά και ετεροπυρηνικά πειράματα NMR σε πολλές περιπτώσεις επιτρέπουν τον προσδιορισμό οργανικών μορίων σε ένα μίγμα χωρίς να έχει υπάρξει προηγουμένως διαχωρισμός των συστατικών τους.

Αυτό που αξίζει να αναφερθεί είναι πως κάθε αναλυτική τεχνική παρουσιάζει μειονεκτήματα. Ακόμα και η αέρια χρωματογραφία σε σύζευξη με τη φασματομετρία μάζας (GC/MS), που, όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί την πιο ευρέως διαδεδομένη τεχνική στην ανάλυση οργανικών υλικών στην αρχαιομετρία, παρόλα τα σημαντικά της πλεονεκτήματα, όπως το πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης και η υψηλή διακριτική ικανότητα, μπορεί να παρουσιάσει ορισμένα προβλήματα, με αποτέλεσμα να προτείνονται συχνά εναλλακτικές προσεγγίσεις για τις αναλύσεις (107)-(113). Πιο συγκεκριμένα, το σημαντικότερο μειονέκτημα της τεχνικής GC/MS είναι η χρονοβόρα προετοιμασία του δείγματος, καθώς περιλαμβάνει εκχύλιση, απομόνωση, υδρόλυση και αντιδράσεις παραγοντοποίησης. Ένα δεύτερο μειονέκτημα αποτελούν οι περιορισμοί στο μέγεθος των μορίων που μπορούν να διαχωριστούν ικανοποιητικώς με την Αέρια Χρωματογραφία (GC), καθώς η τεχνική παρουσιάζει προβλήματα σε πολυμερισμένες ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Οι τεχνικές που προτείνονται εναλλακτικά περιλαμβάνουν τη Φασματομετρία Μάζας με Άμεση Εισαγωγή (Direct Inlet Mass Spectrometry, DI-MS) (109), τη Φασματομετρία Μάζας με Άμεση Έκθεση (Direct Exposure Mass Spectrometry, DE-MS) (108)-(110) την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης σε σύζευξη με Φασματομετρία Μάζας με Χημικό Ιονισμό σε Ατμοσφαιρική Πίεση (High-Performance Liquid Chromatography – Atmospheric Pressure Chemical Ionisation Mass Spectrometry, HPLC/APCI-MS) (112) και τη Φασματομετρία Μάζας με Άμεση Θέρμανση (Direct Temperature resolved Mass Spectrometry, DT-MS) (113). Προκειμένου να δοκιμαστεί η αξιοπιστία των αναλυτικών τεχνικών στην ανάλυση των αρχαιολογικών και ιστορικών οργανικών κατάλοιπων, έχουν γίνει δύο μελέτες κατά τις οποίες δείγμα γνωστής χημικής σύστασης, παρασκευασμένο σε ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου, έχει δοθεί σε μια σειρά εργαστηρίων (round robin exercise), στα οποία αναλύθηκε το δείγμα με διαφορετικές τεχνικές της επιλογής τους, συμπεριλαμβάνοντας και τη φασματοσκοπία NMR (106), (114). Αυτό που συμπεραίνεται από τις εργασίες είναι πως αν και όλες οι τεχνικές ανιχνεύουν αρκετά καλά μέρος των συστατικών του δείγματος, με καμία δεν έγινε πλήρης προσδιορισμός των συστατικών του. Προτείνεται τέλος η εφαρμογή συνδυασμού αναλυτικών τεχνικών για την αντιμετώπιση ενός αρχαιολογικού προβλήματος που καλείται να απαντηθεί μέσω του προσδιορισμού των οργανικών καταλοίπων/υλικών.

Τα κύρια πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η φασματοσκοπία NMR έναντι άλλων μεθόδων μοριακής ανάλυσης οργανικών υλικών περιλαμβάνουν την πειραματική απλότητα κατά την προετοιμασία του δείγματος, καθώς αρκεί μία απλή εκχύλιση σε διαλύτη που επιλέγεται ανάλογα με τη φύση του δείγματος, εξάτμιση και διάλυση του στερεού κατάλοιπου σε δευτεριωμένο διαλύτη, και το μη καταστρεπτικό χαρακτήρα της, καθώς το δείγμα ανακτάται πλήρως μετά το πέρας των πειραμάτων.

1.4 Σκοπός της εργασίας

Για τους σκοπούς της παρούσας διατριβής επιλέχθηκαν δύο ομάδες φυσικών οργανικών υλικών, τα οποία γνωρίζουμε μέσω αρχαιολογικών ερευνών και ιστορικών πηγών πως έχουν χρησιμοποιηθεί από τεχνίτες του παρελθόντος κατά την παρασκευή υλικού πολιτισμού. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από φυσικούς φυτικούς και ζωικούς κηρούς, ενώ η δεύτερη από φυσικές, τερπενοειδείς ρητίνες. Και οι δύο ομάδες υλικών έχουν χρησιμοποιηθεί ως προστατευτικά επιστρώματα, ως υλικά στεγάνωσης, ως συγκολλητικά υλικά, ως συστατικά φαρμακευτικής, αλλά και σε συμβολικές/ιεροτελεστικές περιστάσεις.

Σκοπός της εργασίας είναι να αναλυθούν όλα τα δείγματα ρητινών και κεριών, τα οποία έχουμε επιλέξει ως δείγματα αναφοράς, με μονοδιάστατα (1D) και δισδιάστατα (2D) πειράματα NMR, ώστε να καταστεί δυνατή η ταυτοποίηση συγκεκριμένων ενώσεων – δεικτών (markers) στο κάθε δείγμα, χαρακτηριστικές του εκάστοτε υλικού. Τα μονοδιάστατα (1D) πειράματα NMR που επιλέχθηκαν είναι τα πειράματα ^1H και ^{13}C NMR και τα δισδιάστατα (2D) πειράματα είναι το ομοπυρηνικό ^1H - ^1H COSY 2D NMR πείραμα, και τα ετεροπυρηνικά ^1H - ^{13}C HMQC 2D NMR και ^1H - ^{13}C HMBC 2D NMR πειράματα. Τα μονοδιάστατα (1D) ^1H και ^{13}C NMR είναι τα πιο διαδεδομένα πειράματα της φασματοσκοπίας NMR, καθώς το υδρογόνο και ο άνθρακας είναι τα κύρια συστατικά των οργανικών μορίων, αλλά και λόγω της πειραματικής τους απλότητας και της μεγάλης χρησιμότητας των πληροφοριών που μπορούν να δώσουν. Το ομοπυρηνικό ^1H - ^1H COSY 2D NMR πείραμα (COSY=COrrelation SpectroscOpy) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των πρωτονίων τα σπιν των οποίων βρίσκονται σε σύζευξη. Το δισδιάστατο φάσμα που προκύπτει περιέχει μια διαγώνιο, η οποία αντιστοιχεί στο μονοδιάστατο φάσμα ^1H

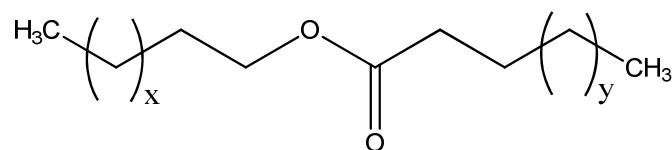
NMR, καθώς και κορυφές συμμετρικές ως προς τη διαγώνιο (cross-peaks), οι οποίες είναι ενδεικτικές των πρωτονίων που βρίσκονται σε σύζευξη, όπως αντίστοιχα η σχέση των κορυφών σε πολλαπλές είναι ενδεικτική της σύζευξης πρωτονίων σε ένα ^1H NMR πείραμα. Οι κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα είναι αποτέλεσμα του φαινομένου της μεταφοράς μαγνήτισης. Καθώς το πείραμα ανιχνεύει πρωτόνια που βρίσκονται σε σύζευξη, δηλαδή πρωτόνια που βρίσκονται σε γειτονικές θέσεις, το πείραμα ^1H - ^1H COSY 2D NMR είναι ιδιαίτερα χρήσιμο στον προσδιορισμό ενός μορίου. Τα ετεροπυρηνικά πειράματα που επιλέχθηκαν περιλαμβάνουν το ^1H - ^{13}C HMQC 2D NMR (Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation spectroscopy) πείραμα, καθώς και το ^1H - ^{13}C HMBC 2D NMR (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy) πείραμα. Το πρώτο ανιχνεύει τη σύζευξη ^1H και ^{13}C που συνδέονται με χημικό δεσμό, ενώ το δεύτερο ανιχνεύει τη σύζευξη ^1H και ^{13}C που χωρίζονται κατά μέσο όρο από 2 έως 4 χημικούς δεσμούς. Κάθε κορυφή (cross-peak) στην πρώτη περίπτωση αντιστοιχεί στη χημική μετατόπιση του ^1H από τον ένα άξονα και στη χημική μετατόπιση του ^{13}C με τον οποίο είναι συνδεδεμένο με χημικό δεσμό από τον άλλο άξονα, ενώ στη δεύτερη περίπτωση κάθε κορυφή αντιστοιχεί στη χημική μετατόπιση του ^1H από τον ένα άξονα και στη χημική μετατόπιση του ^{13}C με τον οποίο χωρίζονται από 2 έως 4 χημικούς δεσμούς από τον άλλο άξονα. Γνωρίζοντας ποιο πρωτόνιο είναι συνδεδεμένο με ποιο άνθρακα, αλλά και ποιοι είναι οι γειτονικοί άνθρακες του κάθε πρωτονίου, συμβάλει σημαντικά στον προσδιορισμό της δομής ενός μορίου. Ακόμα και αν ένα μόριο βρίσκεται σε ένα μίγμα, είναι δυνατή η ανίχνευση χαρακτηριστικών κορυφών (cross-peaks) που να αντιστοιχούν σε ένα συγκεκριμένο μόριο, ειδικά αν αυτό το μόριο βρίσκεται σε περίσσεια στο μίγμα.

Ο τελικός σκοπός των πειραμάτων είναι ο προσδιορισμός των ενώσεων-δεικτών, και άρα των υλικών, ρητίνες ή κεριά στη συγκεκριμένη περίπτωση, σε αρχαιολογικά και ιστορικά δείγματα. Για το λόγο αυτό η μεθοδολογία που προτείνεται θα τεθεί σε δοκιμασία, καθώς θα αναλυθούν μια σειρά από δείγματα αρχαιολογικών τοιχογραφικών από την Πομπηία, αλλά και πιο πρόσφατων έργων ζωγραφικής, όπου θα επιχειρηθεί η ταυτοποίηση των οργανικών υλικών που είναι παρόντα στα δείγματα.

2 ΦΥΣΙΚΟΙ ΚΗΡΟΙ ΚΑΙ ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΡΗΤΙΝΕΣ: ΓΕΝΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ

2.1 Κηροί

Οι κηροί, ή τα κεριά όπως είναι αλλιώς γνωστά, είναι φυσικά προϊόντα η σύσταση των οποίων απαρτίζεται από περίπλοκα μίγματα οργανικών ενώσεων. Συγκεκριμένα, τα διάφορα υλικά που συγκαταλέγονται στον ευρύ όρο «κηρός» δεν συνιστούν μια ομογενή χημικά ομάδα, αλλά μάλλον ένα μίγμα υδρόφοβων οργανικών ενώσεων μακριάς ανθρακικής αλυσίδας και χαρακτηρίζονται από κοινές ιδιότητες, όπως η πλαστικότητα και το χαμηλό σημείο τήξεως. Τα κύρια συστατικά τους συμπεριλαμβάνουν αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με μακριά ανθρακική αλυσίδα, λιπαρά οξέα, καθώς και τους εστέρες τους με ανώτερες αλκοόλες (Σχήμα 2.1) (115)-(117).



Σχήμα 2.1: Εστέρας λιπαρών οξέων με ανώτερες αλκοόλες, κύριο συστατικό των κεριών

Τα κεριά ήταν γνωστά από την αρχαιότητα στην Αίγυπτο, την Ελλάδα και τη Ρώμη και έχουν χρησιμοποιηθεί ως συγκολλητικά υλικά, ως προστατευτικά επιστρώματα τοιχογραφιών και γλυπτών, ως υλικά γλυπτικής, καθώς και σαν μέσα διασποράς χρωστικών σε διάφορες τεχνικές ζωγραφικής, όπως επί παραδείγματι η τεχνική της εγκουστικής τηγμένων κεριών που χρησιμοποιείται στα πορτραίτα Φαγιούμ (116).

Ανάλογα με την προέλευση τους, τα κεριά διακρίνονται σε ζωικά, φυτικά και ορυκτά. Τα ζωικά κεριά συμπεριλαμβάνουν το κεριά μέλισσας, τη λανολίνη, προϊόν λίπους προβάτου, το κεριά φάλαινας ή σπερματσέτο, και το κινέζικο κεριά, που λαμβάνεται από το έντομο *Coccus ceriferus*. Τα δε κεριά καρνάουμπα, καντέλιλλα, ουρικούρι και λάδι jojoba αποτελούν τους κύριους αντιπροσώπους των φυτικών κηρών. Τέλος, τα ορυκτά κεριά περιλαμβάνουν τον οζοκηρίτη, το κεριά Μοντάν και τα παραφινικά κεριά. Για τους σκοπούς της παρούσας εργασίας αποφασίσαμε να ασχοληθούμε με αντιπροσωπευτικά δείγματα ζωικών και φυτικών κεριών.

2.1.1 Κηρός μέλισσας

Το κηρί της μέλισσας είναι ο κύριος αντιπρόσωπος των ζωικών κηρών. Παρακάτω παρουσιάζεται η χημική σύσταση (Πίνακας 2.1) και οι φυσικοχημικές του ιδιότητες (Πίνακας 2.2) (118) - (120). Το κύριο συστατικό του κηρού μέλισσας είναι οι εστέρες λιπαρών οξέων με ανώτερες αλκοόλες. Η μεγάλη πλειοψηφία των εστεροποιημένων λιπαρών οξέων αποτελείται κυρίως από το παλμιτικό (C 16:0) και κατά δεύτερον το στεαρικό (C 18:0) οξύ, ενώ και σε μικρότερο ποσοστό απαντώνται τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, παλμιτελαϊκό (C 16:1) και ολεϊκό (C 18:1) οξύ (119). Οι αλκοόλες που εμπεριέχονται στους προαναφερόμενους εστέρες περιέχουν από 24 έως 34 άτομα άνθρακα, με κύριους αντιπρόσωπους τις αλκοόλες C₂₆ και C₃₀ (μελισσόλη) (119).

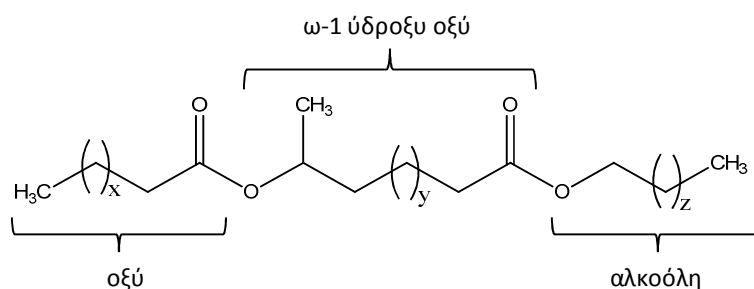
Πίνακας 2.1: Σύσταση κηρού μέλισσας

Σύσταση κηρού μέλισσας	
Ένωση	% κβ
Υδρογονάνθρακες	14
Μονοεστέρες	35
Διεστέρες	14
Τριεστέρες	3
ύδροξυ μονοεστέρες	4
ύδροξυ πολυεστέρες	8
ελεύθερα οξέα	12
καρβοξυλο-μονοεστέρες	1
καρβοξυλο-πολυεστέρες	2
Άγνωστα συστατικά	7

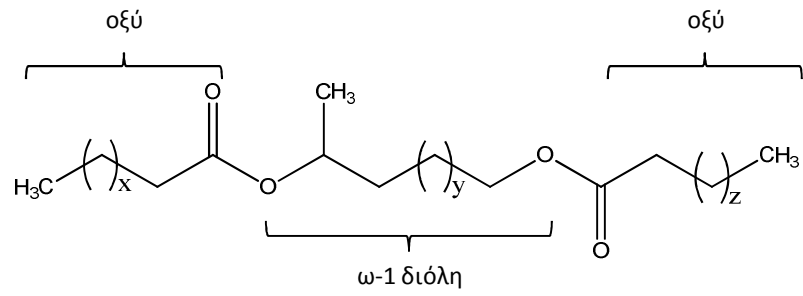
Πίνακας 2.2: Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού μέλισσας

Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού μέλισσας	
σημείο τήξεως	62-65°C
οξύτητα	17-24
βαθμός εστεροποίησης	72-79
ασαπονωποίηση	45-55%
δείκτης ιωδίου	8-11

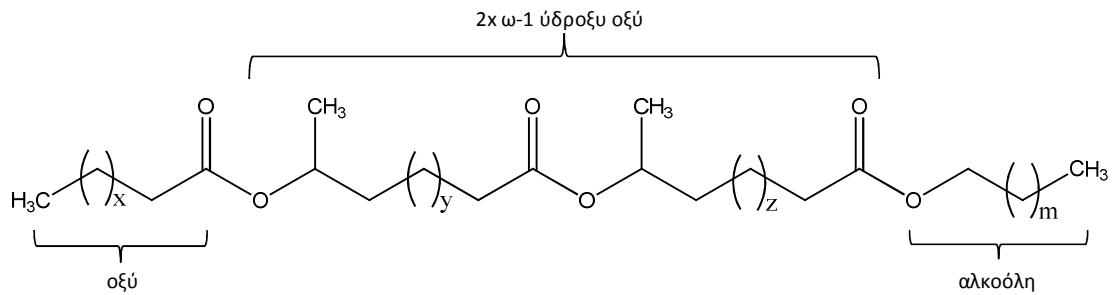
Εκτός από τους μονοεστέρες, το κερι μέλισσας περιέχει και διεστέρες, οι οποίοι κατά 80% αποτελούνται από εστεροποιημένους ύδροξυ εστέρες (Σχήμα 2.2) και κατά 20% από προϊόντα εστεροποίησης διολών (Σχήμα 2.3), καθώς και τριεστέρες, επίσης προϊόντα εστεροποίησης ύδροξυ εστέρων και διολών, όπως φαίνονται στο Σχήμα 2.4 και Σχήμα 2.5, αλλά και μια μικρή ποσότητα ύδροξυ πολυεστέρων. Η πλειοψηφία των ύδροξυ οξέων και διολών στο κερι μέλισσας έχουν το υδροξύλιο σε θέση ω-1, γεγονός που συμβάλει στην πλαστικότητα του (119).



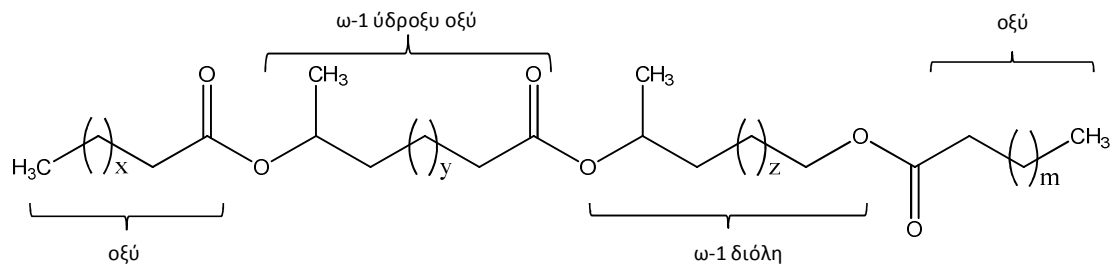
Σχήμα 2.2: Δις εστεροποιημένος ω-1 υδροξυεστέρας, συστατικό κηρού μέλισσας



Σχήμα 2.3: Δις εστεροποιημένη ω-1 διόλη, συστατικό κηρού μέλισσας



Σχήμα 2.4: Τριεστέρας σε κηρό μέλισσας



Σχήμα 2.5: Τριεστέρας σε κηρό μέλισσας

Η σύσταση του κεριού μέλισσας συμπεριλαμβάνει επίσης ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα οποία, εν αντιθέσει με τα εστεροποιημένα, αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από C24-34 οξέα, με κύριο αντιπρόσωπο το λιγνοκηρικό οξύ (C 24:0) ενώ δεν περιέχουν καθόλου παλμιτικό ή στεαρικό οξύ (119), καθώς και ένα μικρό ποσοστό ελεύθερων ύδροξυ οξέων και ύδροξυ μονοεστέρων. Τέλος, περίπου κατά 14% κατά βάρος, απαντώνται υδρογονάνθρακες με 25 έως 33 άτομα άνθρακα (120) - (121), καθώς και ένα χαμηλό ποσοστό φλαβονοειδών ενώσεων (122).

Το κεριό της μέλισσας έχει χρησιμοποιηθεί σε ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών. Μία από τις παλαιότερες είναι η χρήση του σε βραχογραφήματα στο σπήλαιο Lascaux στη Γαλλία, το οποίο χρονολογείται από την Παλαιολιθική Εποχή (123). Επίσης χρησιμοποιήθηκε εκτεταμένα στην Αρχαία Αίγυπτο και Ελλάδα (124)-(125) , αλλά και κατά τη Ρωμαϊκή Περίοδο ως συγκολλητική ουσία, προστατευτικό επίστρωμα ή ουσία στεγανοποίησης, σε τέχνες όπως η γλυπτική και οι τοιχογραφίες, στην παρασκευή σφραγίδων, και στην κατασκευή πλοίων (116).

2.1.2 Κηρός καρνάουμπα

Ο κύριος εκπρόσωπος των φυτικών κεριών είναι το κεριό καρνάουμπα, το οποίο εκκρίνεται από την επιφάνεια των φύλων ενός φοινικόδεντρου της βορειοανατολικής Βραζιλίας (*Copernicia cerifera*). Η παραπάνω διαδικασία αποτελεί μία συνήθη τακτική των τροπικών φυτών, ώστε να επιβραδύνεται η εξάτμιση του νερού από τα φύλλα και τους καρπούς τους (126). Η σύσταση του και οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται παρακάτω (Πίνακας 2.3 και Πίνακας 2.4) και, όπως και το κεριό μέλισσας, αποτελείται κυρίως από εστέρες λιπαρών οξέων με ανώτερες αλκοόλες (127) - (128).

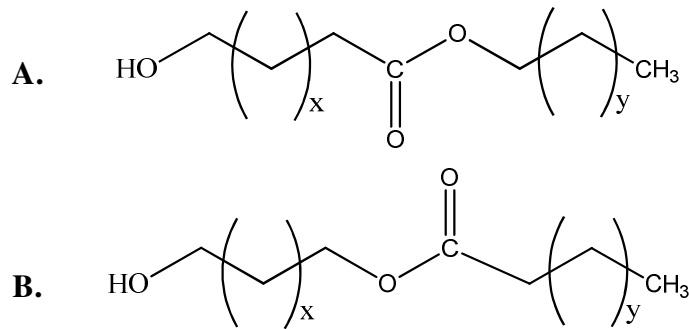
Πίνακας 2.3: Σύσταση κηρού καρνάουμπα

Σύσταση κηρού καρνάουμπα	
Ένωση	% κβ
υδρογονάνθρακες	1
αλειφατικοί εστέρες	40
ελεύθερα οξέα	4
ελεύθερες αλκοόλες	12
ύδροξυ εστέρες	13
ύδροξυ οξέα	0.5
p-μέθοξυ-κινναμικοί αλειφατικοί διεστέρες	21
p-ύδροξυ-κινναμικοί αλειφατικοί διεστέρες	7
αρωματικά οξέα	1
τριτερπενικές διόλες	0.5

Πίνακας 2.4: Φυσικοχημικές ιδιότητες του κηρού καρνάουμπα

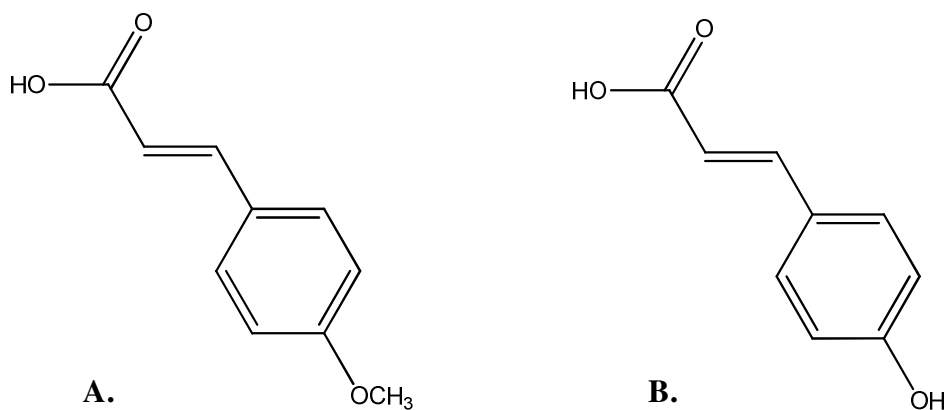
Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού καρνάουμπα	
σημείο τήξεως	80-86°C
οξύτητα	2-7
βαθμός εστεροποίησης	71-93
ασαπονωποίητα	50-55%
δείκτης ιωδίου	13-14

Το κεριό καρνάουμπα περιέχει επίσης ω-ύδροξυ εστέρες, οι οποίοι κατά 90% αποτελούνται από προϊόντα εστεροποίησης ω-ύδροξυ οξέων με αλκοόλες (A) και κατά 10% από προϊόντα εστεροποίησης ω-διολών με οξέα (B) (Σχήμα 2.6), ενώ δε φαίνεται να περιέχει καθόλου πολυεστέρες (127).

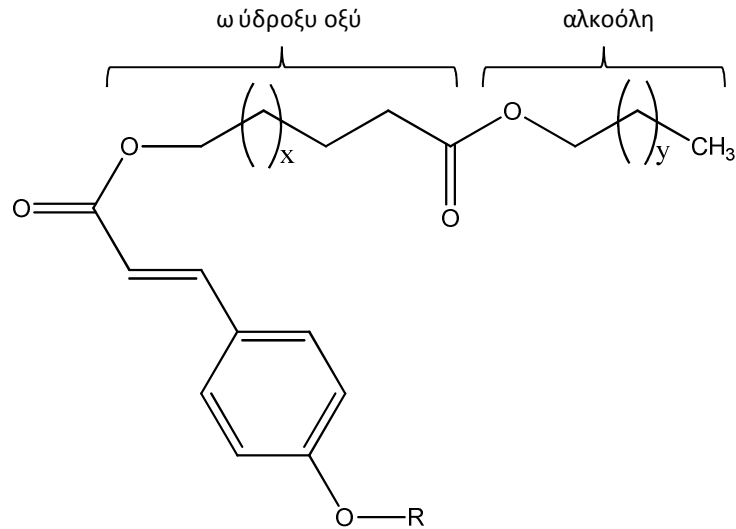


Σχήμα 2.6: ω-ύδροξυ εστέρες στον κηρό καρνάουμπα

Χαρακτηριστικά συστατικά του κεριού καρνάουμπα αποτελούν επίσης και οι εστέρες του p- ύδροξυ- και μέθοξυ- υποκατεστημένου κινναμικού οξέος, με το μέθοξυ- υποκατεστημένο προϊόν να είναι σε μεγαλύτερη αφθονία (Σχήμα 2.7 και Σχήμα 2.8) (127).

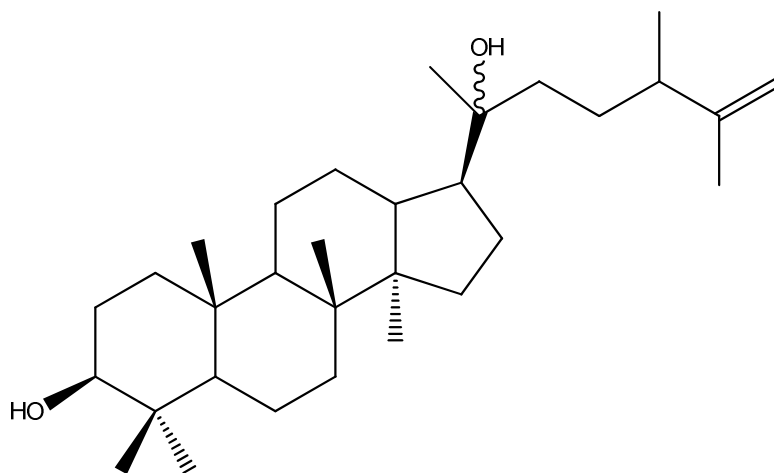


Σχήμα 2.7: p-ύδροξυ και p-μέθοξυ κινναμικό οξύ



Σχήμα 2.8: Διεστέρας κηρού καρνάουμπα (R = H ή CH₃)

Τέλος, συμπεριλαμβάνεται επίσης ένα μικρό ποσοστό υδρογονανθράκων και ελεύθερων αλκοολών, καθώς και παράγωγα μιας τριτερπενικής διόλης, η οποία έχει ονομαστεί καρναουμπαδιόλη (Σχήμα 2.9) (129) - (130).



Σχήμα 2.9: Καρναουμπαδιόλη, τριτερπενικό συστατικό του κηρού καρνάουμπα

Το κεριό καρνάουμπα είναι το πιο σκληρό από τα κεριά και συχνά προστίθεται σ' αυτά για να αυξηθεί η σκληρότητά τους. Αυτό οφείλεται στην έλλειψη των ω-1 μεθυλίων, όπως για παράδειγμα στο κεριό μέλισσας, τα οποία δίνουν μια λιγότερο

συμπαγή τρισδιάστατη δομή (119). Στην Ευρώπη εισήχθη κατά τον 19^ο αιώνα και από τότε έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιομηχανία καλλυντικών, τροφίμων και χάρτου, αλλά και στην παρασκευή βερνικιών για έπιπλα, πατώματα και δερμάτινα είδη (116).

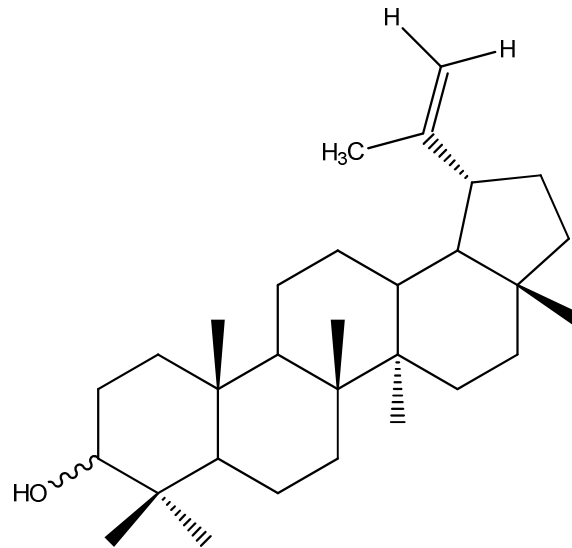
2.1.3 Κηρός καντέλιλλα

Η καντέλιλλα είναι ένα θαμνώδες φυτό (*Euphorbia antisiphylitica*), αυτοφυές της κεντρικής Αμερικής, από το οποίο παράγεται ο ομώνυμος κηρός (131). Εν αντιθέσει με τα υπόλοιπα φυτικά και ζωικά κεριά, το κύριο συστατικό του κεριού καντέλιλλα είναι οι υδρογονάνθρακες, τους οποίους περιέχει σε ποσοστό 45-52%. Όλοι οι υδρογονάνθρακες που έχουν ανιχνευτεί έχουν γραμμική ανθρακική αλυσίδα, ενώ όσο μεγαλύτερη είναι η αλυσίδα, τόσο φαίνεται να αυξάνεται το βαθμός ακορεστότητάς τους (128) - (132).

Εκτός από τους υδρογονάνθρακες, το κεριό καντέλιλλα περιέχει επίσης εστέρες αλειφατικών οξέων με αλκοόλες με γραμμικές ανθρακικές αλυσίδες, κορεσμένες και ακόρεστες, ύδροξυ εστέρες (131), (133), καθώς και παράγωγα της λουπεόλης (Σχήμα 2.10), η οποία ανήκει στις τριτερπενικές ενώσεις (131), (134).

Πίνακας 2.5: Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού καντέλιλλα

Φυσικοχημικές ιδιότητες κηρού καντέλιλλα	
σημείο τήξεως	66-71°C
οξύτητα	11-29
βαθμός εστεροποίησης	40-47
ασαπονωπιότητα	47-62%
δείκτης ιωδίου	19-44



Σχήμα 2.10: Λουπεόλη, τριτερπενικό συστατικό του κηρού καντέλιλλα

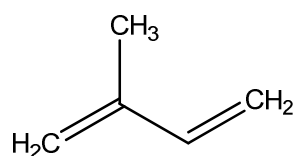
Το κερι καντέλιλλα έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην βιομηχανία καλλυντικών και τροφίμων

2.2 Τερπενοειδείς ρητίνες

Οι τερπενοειδείς ή τερπενικές ρητίνες είναι κολλώδεις οργανικές ενώσεις, αδιάλυτες στο νερό. Αποτελούν προϊόντα εκκρίσεων κορμών δέντρων διαφόρων οικογενειών, και απαντώνται σε ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών. Από την αρχαιότητα έχουν χρησιμοποιηθεί ως συγκολλητικά υλικά, βερνίκια και ως συνδετικά χρωμάτων. Η χημική σύσταση των τερπενοειδών ρητινών έχει απασχολήσει σε σημαντικό βαθμό την επιστημονική κοινότητα, με αποτέλεσμα να υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός δημοσιεύσεων με το θέμα αυτό (135)-(153). Οι τερπενικές ενώσεις αποτελούν μια ευρεία κατηγορία ενώσεων που περιέχουν ως δομική ομάδα το ισοπρένιο (Σχήμα 2.11) και ταξινομούνται σε διάφορες ομάδες ανάλογα με τον αριθμό ατόμων άνθρακα στο μόριο τους.

- Μονοτερπενικές ενώσεις (C-10)
- Σεσκιτερπενικές ενώσεις (C-15)
- Διτερπενικές ενώσεις (C-20)
- Τριτερπενικές ενώσεις (C-30)
- Πολυτερπενικές ενώσεις (C-5)_n

Για τους σκοπούς αυτής της εργασίας αποφασίσαμε να ασχοληθούμε με τις διτερπενοειδείς, τις τριτερπενοειδείς και τις σεσκιτερπενοειδείς ρητίνες, καθώς έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως πρώτη ύλη από τεχνίτες και καλλιτέχνες του παρελθόντος (116).

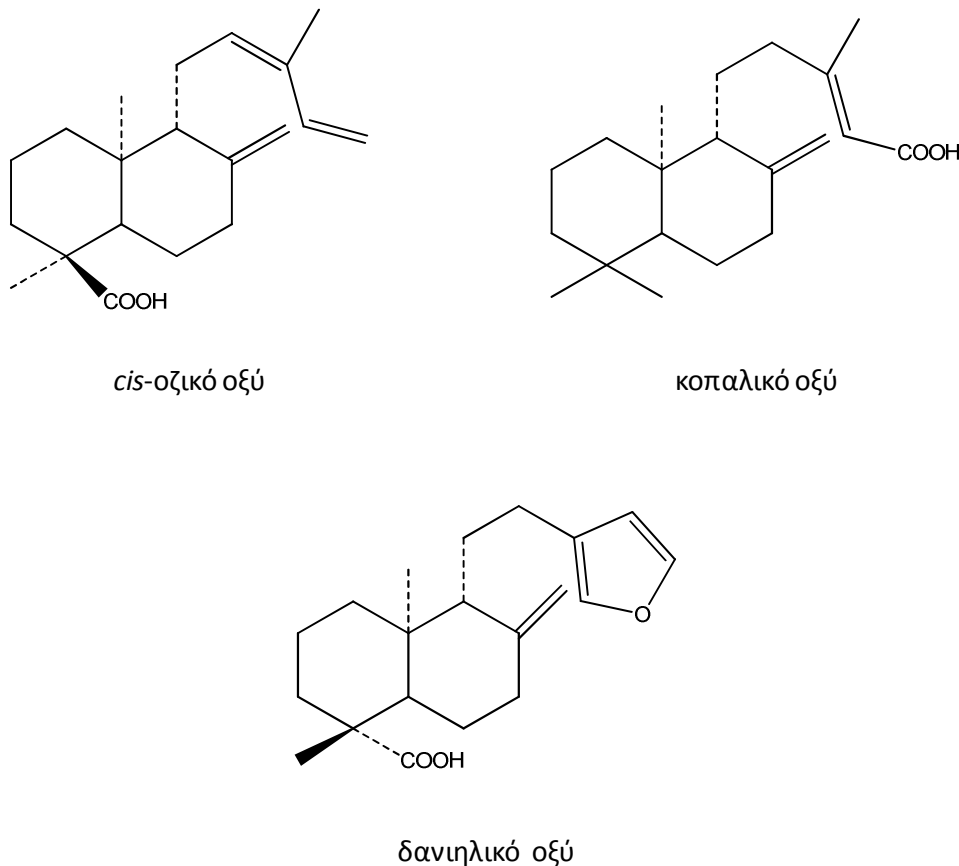


Σχήμα 2.11: Ισοπρένιο (2-μέθυλο-1, 3 βουταδιένιο)

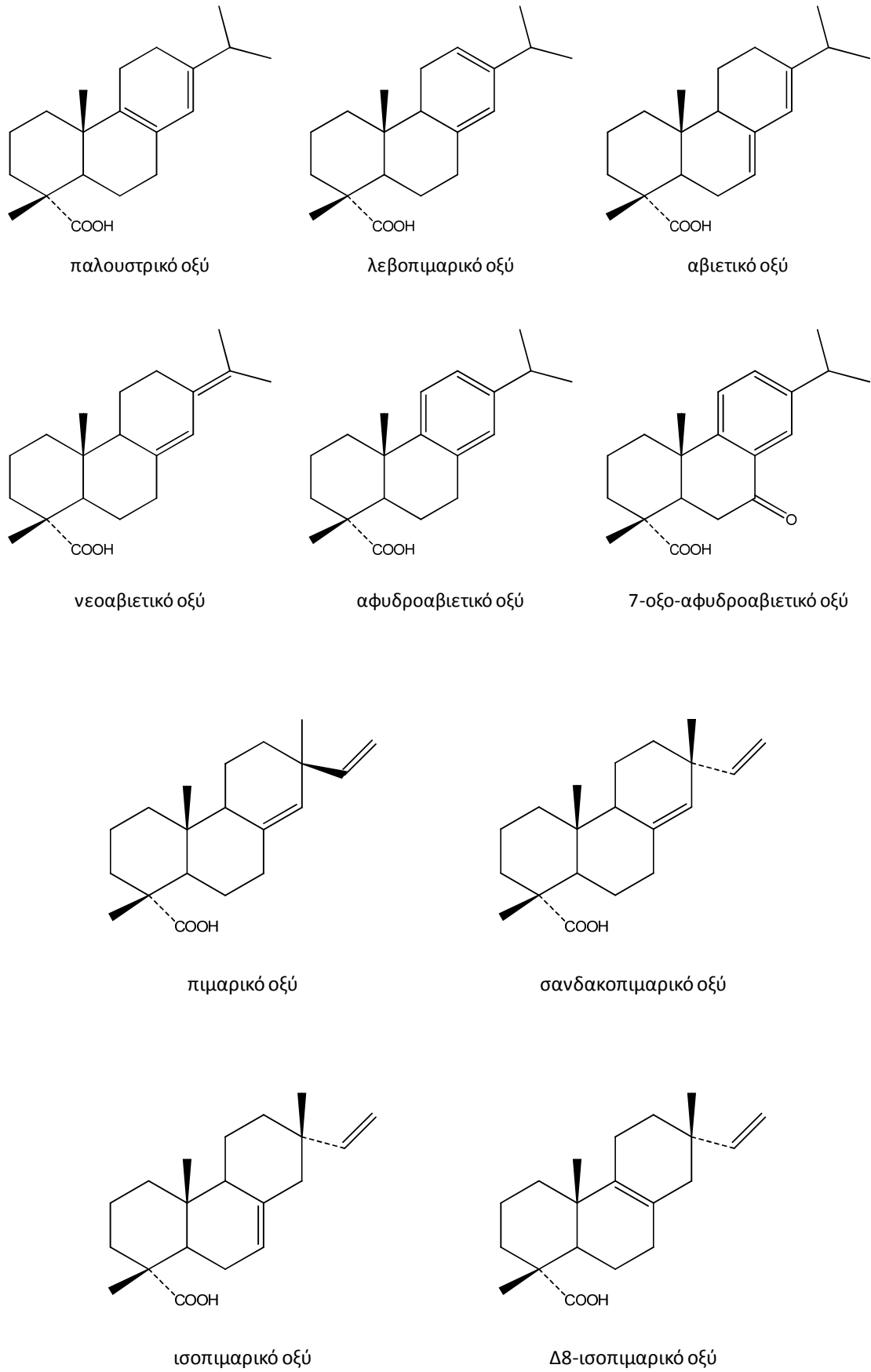
2.2.1 Διτερπενοειδείς ρητίνες

Οι διτερπενοειδείς ρητίνες είναι προϊόντα έκκρισης δέντρων που ανήκουν στις τάξεις των κωνοφόρων και των ψυχανθών. Αποτελούνται από μίγματα διτερπενικών ενώσεων και ταξινομούνται σε τρεις ομάδες: Τα αβιεταδιενικά και τα πιμαραδιενικά οξέα (Σχήμα 2.13), τα οποία εκκρίνονται από δέντρα της οικογένειας των κωνοφόρων, και οι λαβδανικές ενώσεις (Σχήμα 2.12 και Σχήμα 2.14), οι οποίες εκκρίνονται από δέντρα των οικογενειών των κωνοφόρων και των ψυχανθών.

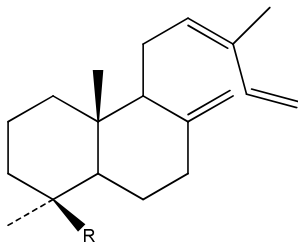
Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας επιλέξαμε να μελετήσουμε δύο χαρακτηριστικούς αντιπρόσωπους των διτερπενοειδών ρητινών, τη σανδαράχη και τα κοπάλια. Το κύριο συστατικό της σανδαράχης είναι το πολυκομμουνικό οξύ, σε αναλογία 70% περίπου, ενώ το κύριο συστατικό των κοπαλίων είναι το *cis*-οζικό οξύ.



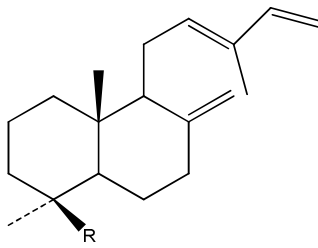
Σχήμα 2.12: Λαβδανικές ενώσεις των ρητινών των ψυχανθών



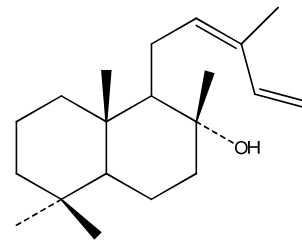
Σχήμα 2.13: Αβιεταδιενικά και πιμαραδιενικά οξέα των ρητινών των κωνοφόρων δέντρων



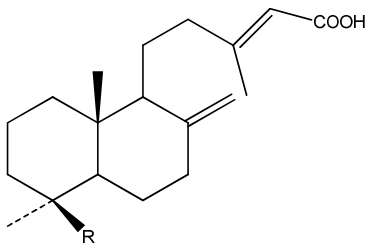
R=COOH cis-κομμουνικό οξύ
R=CH₂OH cis-κομμουνόλη



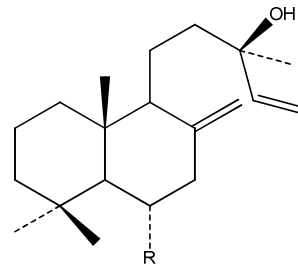
R=COOH trans-κομμουνικό οξύ
R=CH₂OH trans-κομμουνόλη



R=COOH trans-κομμουνικό οξύ



R=CH₃ ent-κοπαλικό οξύ
R=COOH αγαθικό οξύ
R=CH₂OH αγαθολικό οξύ

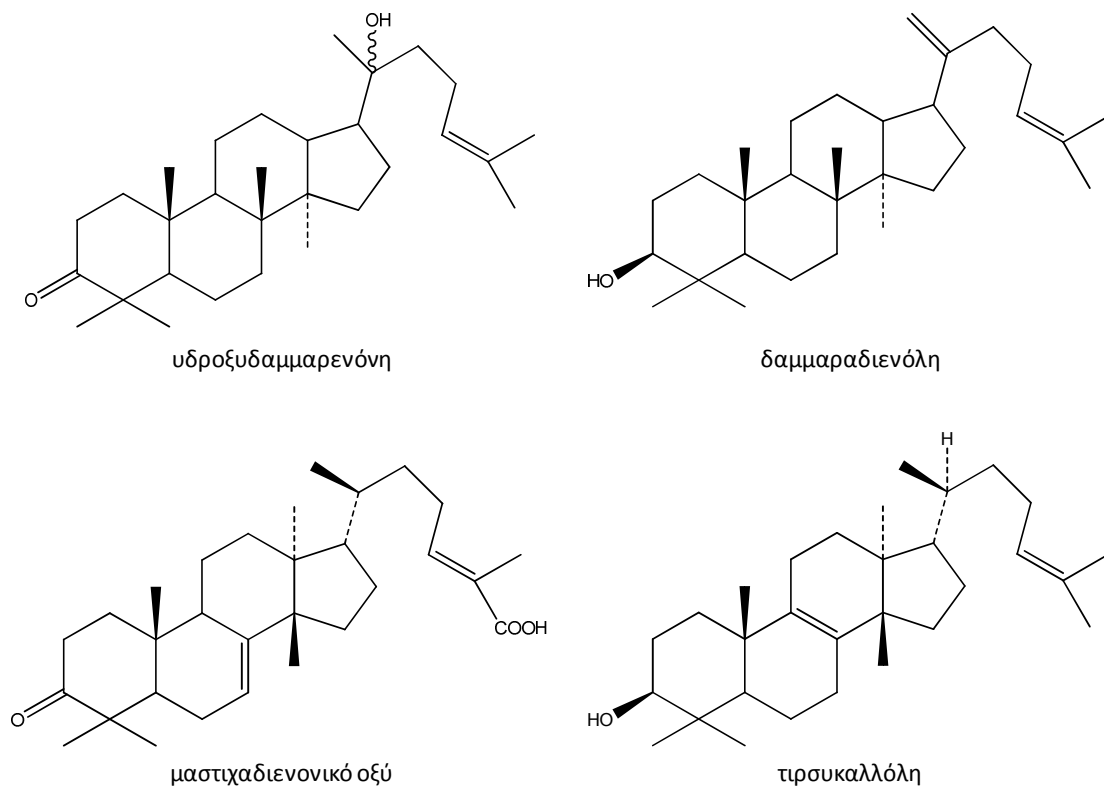


R=H Μανόλη
R=OH Λαριζόλη
R=OAc Οξικός Λαριξεστέρας

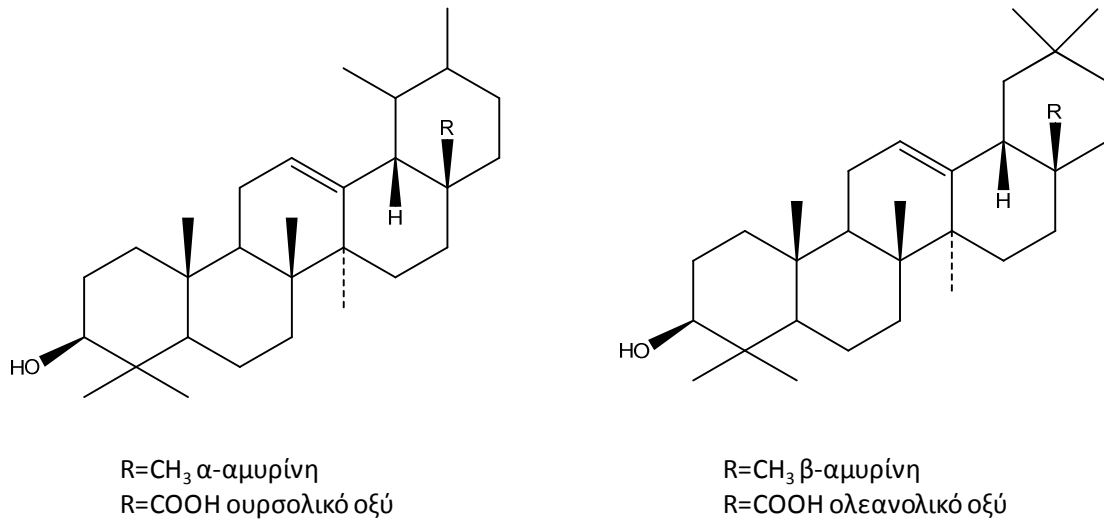
Σχήμα 2.14: Λαβδανικές ενώσεις των ρητινών των κωνοφόρων δέντρων

2.2.2 Τριτερπενοειδείς ρητίνες

Οι τριτερπενικές ενώσεις βρίσκονται σε ρητίνες που εκκρίνονται από πλατύφυλλα, συνήθως τροπικά δέντρα, τα οποία ανήκουν σε διάφορες οικογένειες αγγειοσπέρμων και αποτελούν μια ευρεία κατηγορία πολυκυκλικών ενώσεων, των οποίων ο σκελετός αποτελείται από 30 άτομα άνθρακα. Ταξινομούνται σε δυο κατηγορίες, τις τετρακυκλικές ενώσεις του δαμμαρανίου και του ευφανίου (Σχήμα 2.15), και τις πεντακυκλικές ενώσεις του ολεανίου και του ουρσανίου (Σχήμα 2.16). Οι κύριοι αντιπρόσωποι των τριτερπενοειδών ρητινών είναι η δάμμηρη και η μαστίχη, ρητίνες στις οποίες θα εστιάσουμε για τις ανάγκες των πειραμάτων μας.



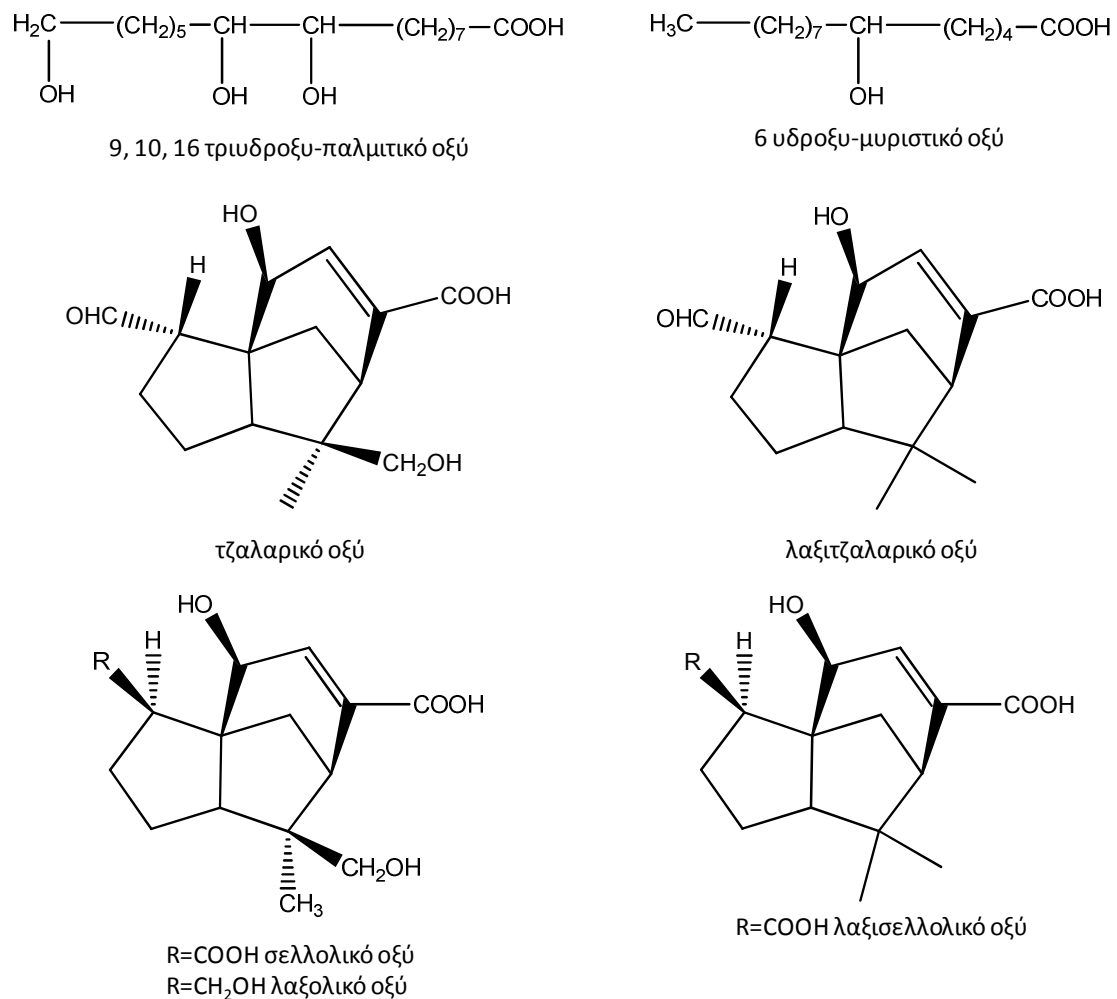
Σχήμα 2.15: Ενώσεις δαμμαρανίου και ευφανίου



Σχήμα 2.16: Ενώσεις του ολεανίου και του ουρσανίου

2.2.3 Σεσκιτερπενοειδείς ρητίνες

Ο κύριος αντιπρόσωπος των σεσκιτερπενικών ρητινών είναι η γομμαλάκα ή σέλακ (shellac). Εκκρίνεται από το έντομο *Laccifer lacca* το οποίο ζει το δέντρο *Boutea frondosa* στην Ινδία. Η γομμαλάκα αποτελείται από ένα ρητινικό μέρος, φυσικές χρωστικές και κεριά αδιάλυτα στην αλκοόλη. Το ρητινικό της μέρος είναι μίγμα πολυεστέρων χαμηλού μοριακού βάρους, που προκύπτουν από την εστεροποίηση αλειφατικών και κυκλικών σεσκιτερπενικών πολυυδροξυοξέων (Σχήμα 2.17).



Σχήμα 2.17: Αλειφατικά και σεσκιτερπενικά οξέα της ρητίνης γομμαλάκα

3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Διαλύτες και παρασκευή διαλυμάτων

Χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες NMR δευτεριωμένη ακετόνη περιεκτικότητας 99.9% σε δευτέριο και 0.1% v/v TMS, καθώς και δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3 , περιεκτικότητας 99.8% σε δευτέριο. Οι διαλύτες αγοράστηκαν από την εταιρία Sigma-Aldrich.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά δείγματα κηρών και τερπενοειδών ρητινών ως πρότυπα – δείγματα αναφοράς κάθε υλικού, καθώς και δείγματα τοιχογραφιών από την Οικία του Μάρκου Λουκρήτιου στην Πομπηία*, και βερνίκια από πίνακες ζωγραφικής†. Για τα δείγματα αναφοράς, παρασκευάστηκαν διαλύματα σε διαλύτη δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) στην περίπτωση των κεριών και της δάμμαρης, ενώ χρησιμοποιήθηκε δευτεριωμένη ακετόνη-d6 για τα δείγματα των υπόλοιπων ρητινών. Χρησιμοποιήθηκε περίπου 100 mg ζυγισμένης

* Helsinki Metropolia University of Applied Sciences

† Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ, ΙΤΕ

ουσίας σε κάθε δείγμα και 0.6 ml δευτεριωμένου διαλύτη. Τα διαλύματα έπειτα, εκχυλίστηκαν σε υδατόλουτρο υπερήχων για 60min περίπου, φιλτραρίστηκαν απευθείας με υαλοβάμβακα σε NMR-tubes διαμέτρου 5 mm, όπου και σφραγίστηκαν για την αποφυγή εξατίσεως του διαλύτη. Στην περίπτωση των δειγμάτων των πινάκων και των τοιχογραφιών, το δείγμα εκχυλίστηκε σε διαλύτη CH_2Cl_2 και ακολούθησε εξατίμιση του διαλύτη με αντλία κενού. Το στερεό υπόλειμμα διαλύθηκε έπειτα σε 120μl δευτεριωμένου διαλύτη, (CDCl_3 στην περίπτωση των τοιχογραφιών από την Πομπηία και δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 στην περίπτωση των δειγμάτων βερνικιών από τους πίνακες ζωγραφικής). Για όλα τα δείγματα πινάκων και τοιχογραφιών χρησιμοποιήθηκαν NMR match tubes καθώς είχαμε στη διάθεση μας μικρή ποσότητα δείγματος, ενώ σε ένα δείγμα από τις τοιχογραφίες της Πομπηίας 2^{00} Ρυθμού χρησιμοποιήθηκε και NMR tube shigemi.

3.2 Πειράματα NMR

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματόμετρο Bruker DPX300 ή AMX500 λειτουργικής συχνότητας 500 MHz για το πρωτόνιο (^1H) και 125.7 MHz για τον άνθρακα (^{13}C). Για δείγματα κεριών καρνάουμπα η θερμοκρασία στο δοκιμαστή ήταν 40°C , καθώς είναι αδιάλυτα σε CDCl_3 σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ για τα υπόλοιπα δείγματα ή θερμοκρασία στο δοκιμαστή ήταν 26°C .

3.2.1 Πειράματα ^1H NMR

Τα μονοδιάστατα φάσματα ^1H ελήφθησαν με 64K πραγματικά δεδομένα με φασματικό εύρος από 0 έως 8 ppm. Η χρονική διάρκεια του παλμού 90° μοιρών ήταν 9.3 μs . Για κάθε φάσμα ελήφθησαν 512 σαρώσεις. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 16 ψευδοσαρώσεις (dummy scans), ώστε θερμοκρασία του δείγματος και το σύστημα των σπιν να φτάσει σε δυναμική ισορροπία, πριν από την πραγματική ανάκτηση του σήματος. Ο χρόνος αναμονής (relaxation delay) πριν από την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών ήταν 2s. Μετά τον μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης και διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος (baseline correction) με ένα πολυώνυμο πέμπτης τάξης. Όλες οι χημικές μετατοπίσεις των σημάτων ^1H NMR αναφέρονται στην κλίμακα δ με πρότυπη ουσία αναφοράς το TMS (δ 0.0).

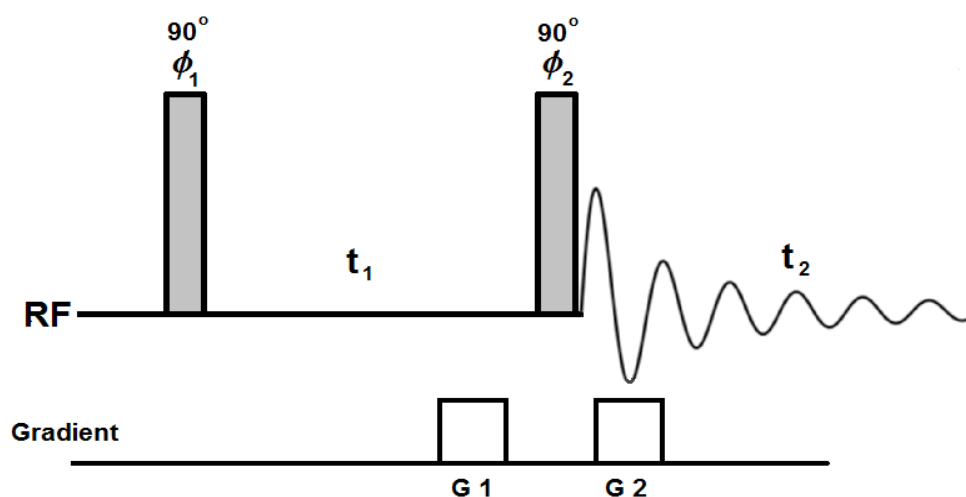
3.2.2 Πειράματα ^{13}C NMR

Τα μονοδιάστατα φάσματα ^{13}C ελήφθησαν με 64K πραγματικά δεδομένα με φασματικό εύρος από 0 έως 200 ppm. Η χρονική διάρκεια του παλμού 90° μοιρών ήταν 10.3 μs . Για κάθε φάσμα ελήφθησαν 11776 σαρώσεις. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 16 ψευδοσαρώσεις (dummy scans), ώστε η θερμοκρασία του δείγματος και το σύστημα των σπιν να φτάσει σε δυναμική ισορροπία, πριν από την πραγματική ανάκτηση του σήματος. Ο χρόνος αναμονής (relaxation delay) πριν από την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών ήταν 3s. Μετά τον μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης και διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος (baseline correction) με ένα πολυώνυμο πέμπτης τάξης.

Όλες οι χημικές μετατοπίσεις των σημάτων ^{13}C NMR αναφέρονται στην κλίμακα δ με πρότυπη ουσία αναφοράς το TMS (δ 0.0).

3.2.3 Ομοπυρηνικά πειράματα ^1H - ^1H gCOSY

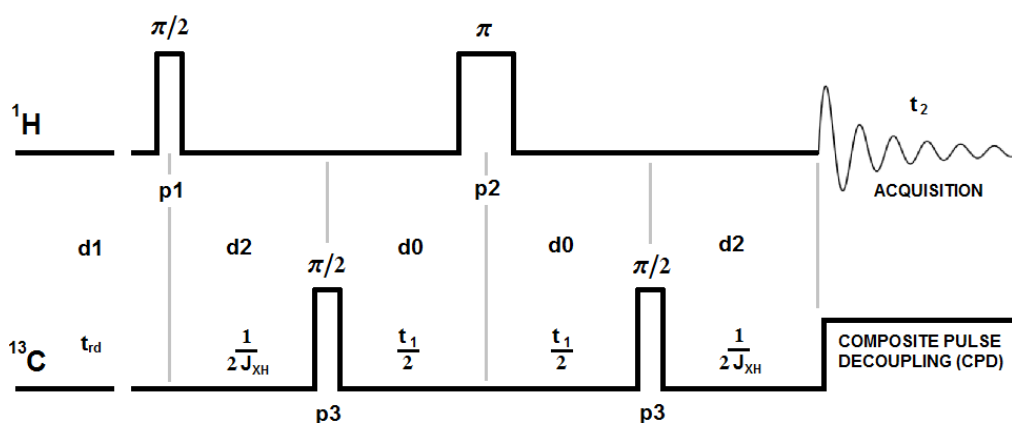
Τα ομοπυρηνικά πειράματα ^1H - ^1H gCOSY με βαθμωτά πεδία ελήφθησαν χρησιμοποιώντας 512 πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της εξέλιξης t_1 και 2K πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της ανίχνευσης t_2 . Οι χρονικές προσαυξήσεις Δt_1 είχαν αρχική τιμή 3 μs και συνολική διάρκεια 182 μs . Για κάθε φάσμα ελήφθησαν 64 σαρώσεις με χρόνο αναμονής 1 s και 16 ψευδοσαρώσεις. Χρησιμοποιήθηκαν τρία ημιτονοειδή παλμικά βαθμωτά πεδία με αναλογία 1:1:3, διάρκειας 1 ms έκαστο. Πριν το μετασχηματισμό Fourier τα δεδομένα στη δεύτερη διάσταση αυξήθηκαν στα 1K πραγματικά δεδομένα (data points) με την τεχνική της γραμμικής πρόβλεψης (linear prediction) και κατόπιν στα 2K με την προσθήκη μηδενικών σημείων στη μνήμη του υπολογιστή, ώστε τα δεδομένα να σχηματίσουν μια μήτρα δεδομένων 2x2 K. Τα δεδομένα και των δύο διαστάσεων πολλαπλασιάστηκαν με τη μαθηματική συνάρτηση sine-bell squared. Στο Σχήμα 3.1 φαίνεται η ακολουθία παλμών για το πείραμα ^1H - ^1H gCOSY.



Σχήμα 3.1: Ακολουθία παλμών gCOSY ομοπυρηνικού συστήματος σπιν. Οι παλμοί (90°) απεικονίζονται με σκιασμένα παραλληλόγραμμα, ενώ οι παλμοί βαθμωτών πεδίων με λευκά παραλληλόγραμμα.

3.2.4 Ετεροπυρηνικά πειράματα ^1H - ^{13}C gHMQC

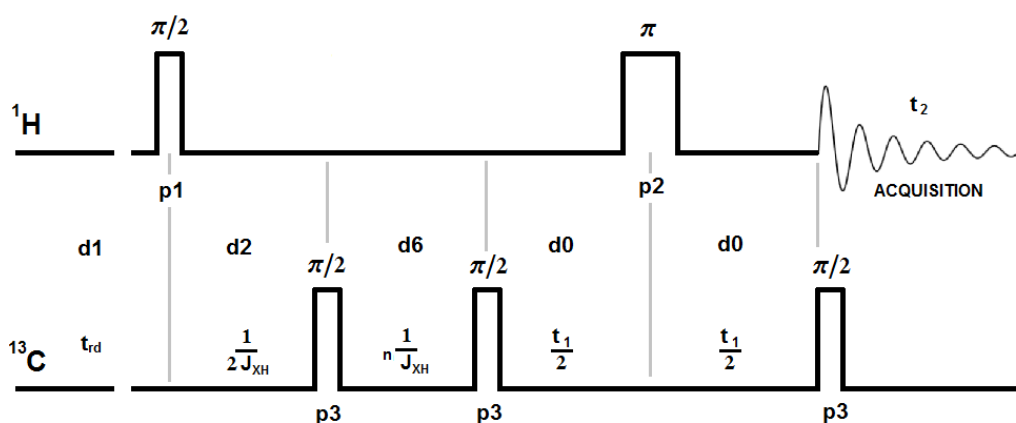
Τα ετεροπυρηνικά πειράματα ^1H - ^{13}C gHMQC με βαθμωτά πεδία ελήφθησαν χρησιμοποιώντας 256 πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της εξέλιξης t_1 και 2K πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της ανίχνευσης t_2 . Οι χρονικές προσαυξήσεις Δt_1 είχαν αρχική τιμή 3 μs και συνολική διάρκεια 20.8 μs . Για κάθε φάσμα ελήφθησαν 16 ψευδοσαρώσεις και 64 σαρώσεις με χρόνο αναμονής 1 s και χρόνο ανάμιξης $\Delta=1/2J=3.45$ ms, ώστε το πείραμα να είναι βελτιστοποιημένο για ανίχνευση σύζευξης ενός δεσμού C-H ($^1J_{\text{C,H}}=145$ Hz). Χρησιμοποιήθηκε η σύνθετη παλμική ακολουθία GARP για την αποσύζευξη των πρωτονίων κατά τη διάρκεια της ανίχνευσης. Η αναλογία των εντάσεων των βαθμωτών πεδίων G_1 , G_2 και G_3 ημιτονοειδούς σχήματος ήταν 5:3:4, ώστε να ικανοποιείται η εξίσωση $G_1(\gamma_{\text{H}}+\gamma_{\text{C}})+G_2(-\gamma_{\text{H}}+\gamma_{\text{C}})+G_3(-\gamma_{\text{H}})=0$, και είχαν διάρκεια 1 ms. Πριν το μετασχηματισμό Fourier τα δεδομένα στη δεύτερη διάσταση αυξήθηκαν στα 2K πραγματικά δεδομένα (data points) με την τεχνική της γραμμικής πρόβλεψης (linear prediction) και με την προσθήκη μηδενικών σημείων στη μνήμη του υπολογιστή τα δεδομένα σχημάτισαν ένα πίνακα δεδομένων 2×2 K. Τα δεδομένα και των δύο διαστάσεων πολλαπλασιάστηκαν με τη μαθηματική συνάρτηση sine-bell squared. Στο Σχήμα 3.2 φαίνεται η ακολουθία παλμών για το πείραμα ^1H - ^{13}C gHMQC.



Σχήμα 3.2: Ακολουθία παλμών πειράματος ^1H - ^{13}C gHMQC, όπου φαίνονται οι παλμοί των 90° ($\pi/2$) και των 180° (π). Κατά την περίοδο ανίχνευσης t_2 ακολουθεί αποσύζευξη ευρείας ζώνης (decoupling) για το πρωτόνιο.

3.2.5 Ετεροπυρηνικά πειράματα ^1H - ^{13}C gHMBC

Τα ετεροπυρηνικά πειράματα ^1H - ^{13}C gHMBC με βαθμωτά πεδία ελήφθησαν χρησιμοποιώντας 256 πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της εξέλιξης t_1 και 2K πραγματικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της ανίχνευσης t_2 . Οι χρονικές προσαυξήσεις Δt_1 είχαν αρχική τιμή 3 μs και συνολική διάρκεια 20.8 μs . Για κάθε φάσμα ελήφθησαν 64 σαρώσεις με χρόνο αναμονής 1 s και 16 ψευδοσαρώσεις. Αρχικά τα σήματα λόγω σύζευξης ενός δεσμού C-H ($^1J_{\text{C,H}}=145$ Hz) καταστάθηκαν με την εφαρμογή ενός χρόνου ανάμιξης 3.45 ms ώστε το πείραμα να είναι βελτιστοποιημένο για ανίχνευση σύζευξης 8 Hz, η οποία είναι μια τυπική τιμή σύζευξης μακράς εμβέλειας (2J). Η αναλογία των εντάσεων των βαθμωτών πεδίων ημιτονοειδούς σχήματος ήταν 5:3:4, όπως και στην περίπτωση του πειράματος ^1H - ^{13}C gHMQC, διάρκειας 1 ms. Πριν το μετασχηματισμό Fourier τα δεδομένα στη δεύτερη διάσταση αυξήθηκαν στα 2K πραγματικά δεδομένα (data points) με την τεχνική της γραμμικής πρόβλεψης (linear prediction) και με την προσθήκη μηδενικών σημείων στη μνήμη του υπολογιστή τα δεδομένα σχημάτισαν ένα πίνακα δεδομένων 2×2 K. Τα δεδομένα και των δύο διαστάσεων πολλαπλασιάστηκαν με τη μαθηματική συνάρτηση sine-bell squared. Στο Σχήμα 3.3 φαίνεται η ακολουθία παλμών για το πείραμα ^1H - ^{13}C gHMBC.



Σχήμα 3.3: Ακολουθία παλμών πειράματος ^1H - ^{13}C gHMBC, όπου φαίνονται οι παλμοί των 90° ($\pi/2$) και των 180° (π). Δεν υφίσταται αποσύζευξη για το πρωτόνιο σ' αυτή την περίπτωση.

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Α. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

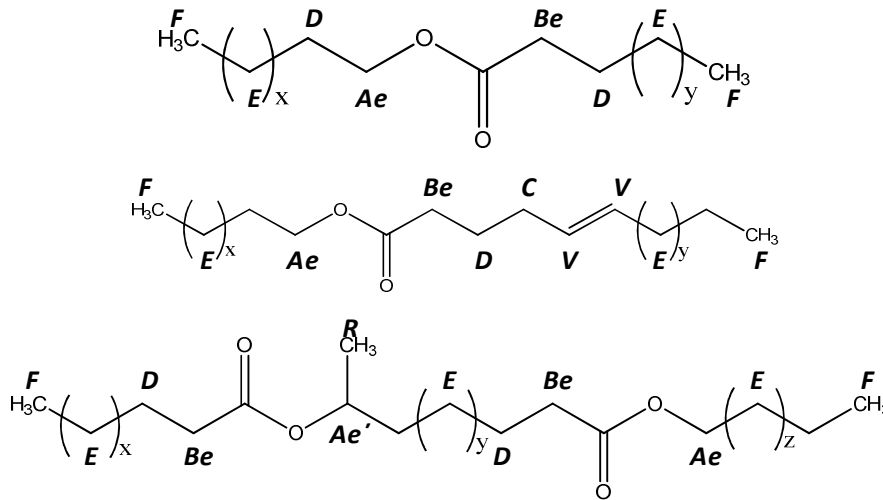
4.1 Κηροί

4.1.1 Κηρός μέλισσας

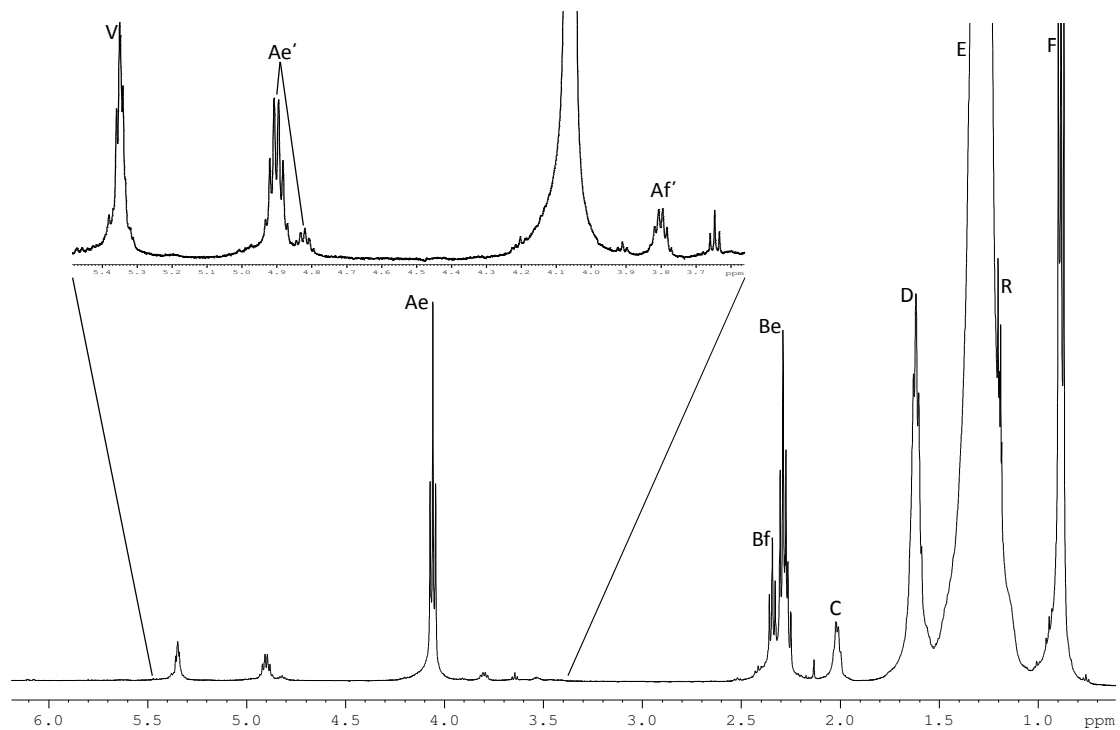
Αναλύθηκαν εμπορικά δείγματα κηρού μέλισσας με μονοδιάστατα και δισδιάστατα πειράματα της φασματοσκοπίας NMR. Τα φάσματα παρουσιάζονται παρακάτω (Σχήμα 4.2-Σχήμα 4.6). Όπως συζητείται παρακάτω, τα πειραματικά δεδομένα έρχονται σε συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία σχετικά με τη σύσταση του κηρού μέλισσας, όπως περιγράφεται στο Κεφάλαιο 2.

Στο Σχήμα 4.2 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H ενός δείγματος κηρού μέλισσας, καθώς και η μεγέθυνση της περιοχής δ 3.5-5.5 ppm. Οι συμβολισμοί που χρησιμοποιούνται στην ανάθεση κορυφών είναι ανάλογοι με αυτούς που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν από το εργαστήριο μας σε μία διερεύνηση της γήρανσης ελαιογραφιών με τη φασματοσκοπία NMR (97), (98). Οι κορυφές που ξεχωρίζουν είναι στα 4.06 ppm (Ae) και 2.29 ppm (Be), οι οποίες αντιστοιχούν στη

αλκοολική και την οξική μεθυλομάδα εκατέρωθεν της εστερομάδας αντίστοιχα (Σχήμα 4.1).



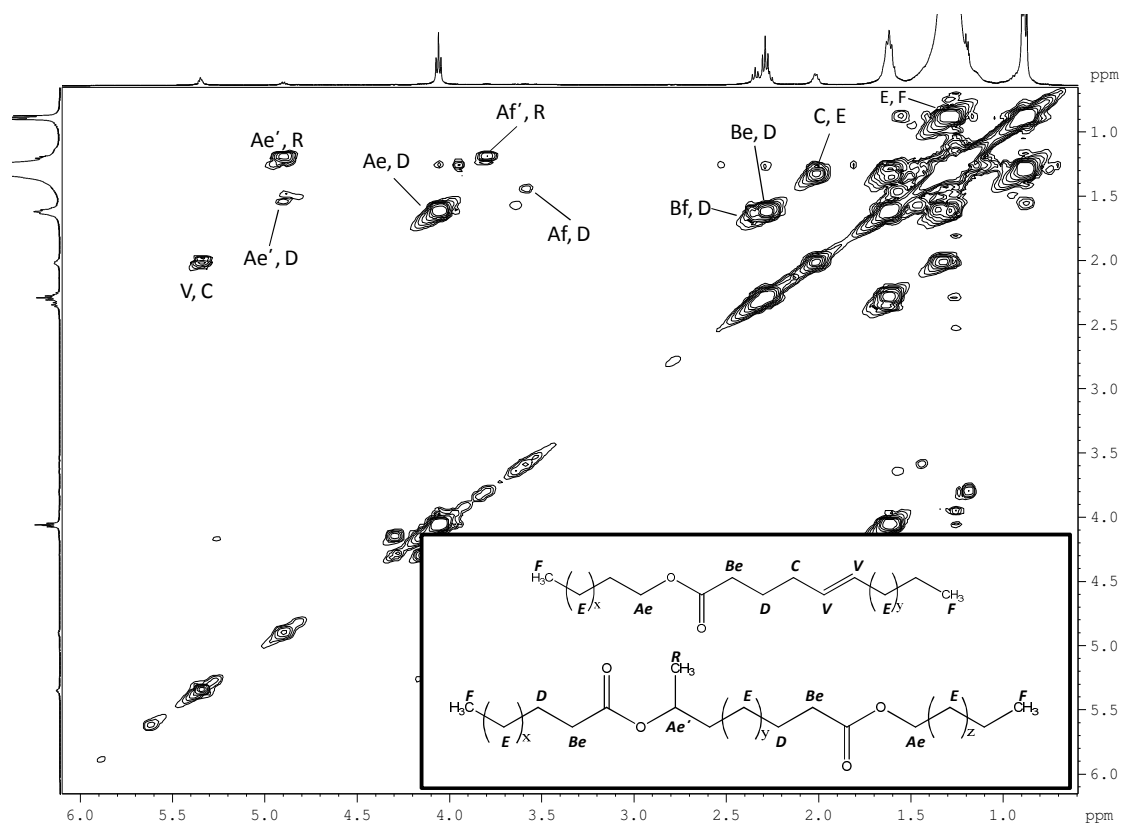
Σχήμα 4.1: Ανάθεση κορυφών ^1H NMR εστέρων κηρού μέλισσας



Σχήμα 4.2: Φάσμα ^1H NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνεται σε μεγέθυνση η περιοχή 3.5-5.5 ppm.

Στο Σχήμα 4.1 παρουσιάζεται η ανάθεση κορυφών των κύριων εστέρων του κηρού μέλισσας, όπου φαίνεται ένας μονοεστέρας, ένας μονοεστέρας με διπλό δεσμό, καθώς και ένα δις εστεροποιημένο ω -1 ύδροξυ-οξύ. Οι παραπάνω, αν και δεν είναι οι μοναδικές δομές εστέρων που απαντώνται στο κερι μέλισσας, είναι αντιπροσωπευτικοί ως προς τις χημικές μετατοπίσεις που εμφανίζονται στο φάσμα ^1H NMR. Όπως γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία, το κερι μέλισσας περιέχει επίσης και ω -1 ύδροξυ οξέα και διόλες, καθώς και τους δι- και τριεστέρες τους. Περιέχει δε σε μικρή ποσότητα και ύδροξυ- πολυεστέρες. Στο Σχήμα 4.3 φαίνεται το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού μέλισσας, όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των πρωτονίων, βάσει των οποίων έχει γίνει η ανάθεση κορυφών.

Συγκεκριμένα φαίνεται η συσχέτιση των βινυλικών πρωτονίων V στα 5.3 ppm με τα αλλυλικά πρωτόνια C στα 2.01 ppm, γεγονός που επιβεβαιώνει την ύπαρξη ακορεστότητας στην ανθρακική αλυσίδα των εστέρων. Αν και γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία (119) πως ο διπλός δεσμός ανήκει στην αλυσίδα των οξέων και/ή υδρογονανθράκων, από τα φάσματα NMR δεν είναι δυνατό να γίνει επιβεβαίωση αυτού αν δεν προηγηθεί υδρόλυση των εστέρων, διαχωρισμός με χρωματογραφία και έπειτα ανάλυση με πείραμα ^1H NMR. Η υδρόλυση είναι εξάλλου η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε στο παρελθόν στις μελέτες κηρού μέλισσας. Επίσης διακρίνεται η σύζευξη των πρωτονίων των μεθυλενομαδων Ae', που προέρχονται από τα ω -1 ύδροξυ οξέα ή τις ω -1 διόλες, με τα πρωτόνια της γειτονικής μεθυλενομάδας D, καθώς και τη σύζευξή τους με το μεθύλιο R. Επιπλέον διακρίνεται η σύζευξη της μεθυλενομάδας πρωτοταγούς αλκοόλης Ae με τα πρωτόνια D. Στο φάσμα διακρίνονται επίσης και ελεύθερες δευτεροταγείς αλκοόλες Af', καθώς και εστεροποιημένα, Be, και ελεύθερα, Bf, καρβοξυλικά οξέα.



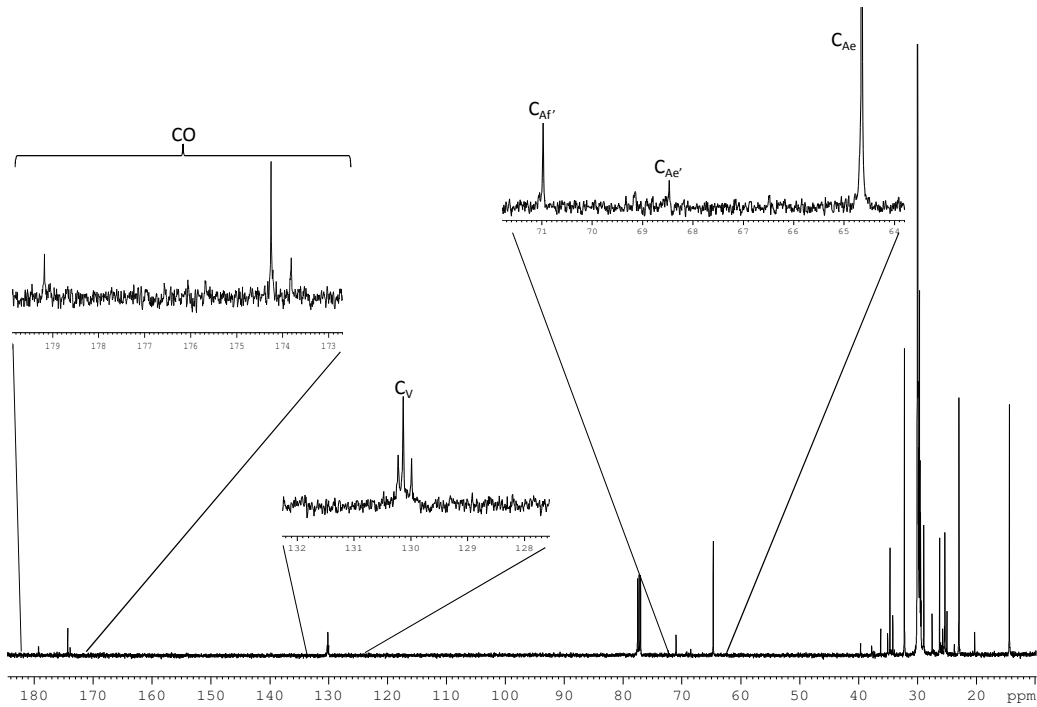
Σχήμα 4.3: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

Στο Σχήμα 4.4 φαίνεται το φάσμα ^{13}C NMR κηρού μέλισσας και στα Σχήμα 4.5 και Σχήμα 4.6 τα φάσματα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR και ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR, σύζευξης ^1H - ^{13}C βραχέως και μακράς εμβέλειας αντίστοιχα.

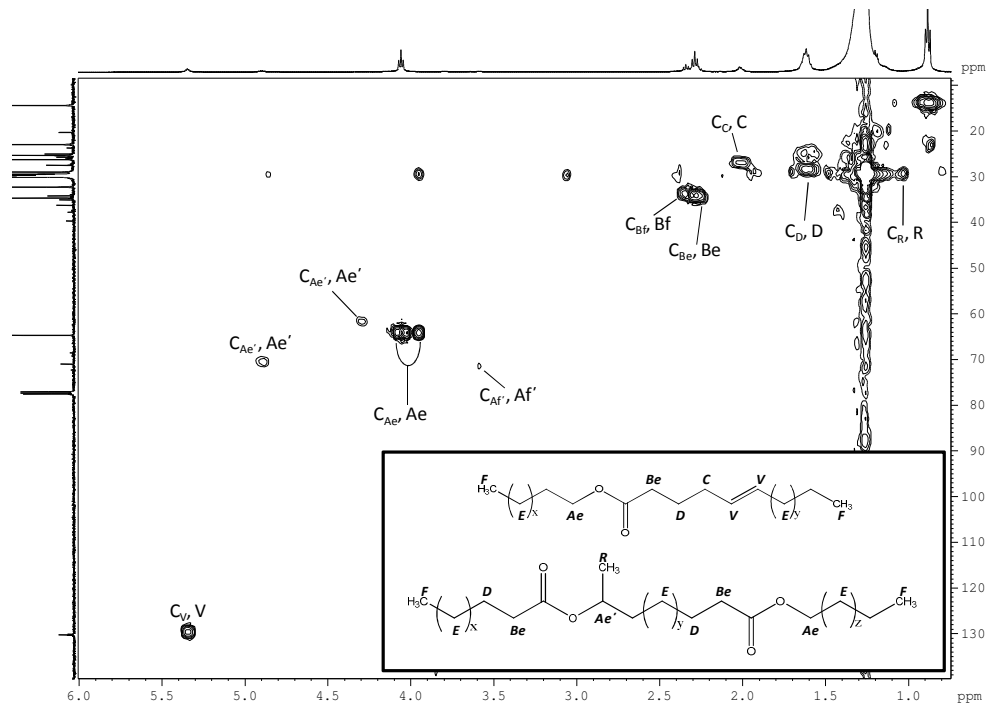
Στο φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR διακρίνεται η σύζευξη των ανθράκων με τα πρωτόνια που είναι απευθείας συνδεδεμένα με αυτά, έχουν δηλαδή σύζευξη ενός δεσμού. Διακρίνονται η κορυφή συσχέτισης των βινυλικών και αλλυλικών πρωτονίων με τους αντίστοιχους άνθρακες, καθώς και των πρωτονίων Ae και Af και Be και Bf των αλκοολών και οξέων αντίστοιχως.

Στο φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR, όπου φαίνονται οι συζεύξεις C-H μακράς εμβέλειας, διακρίνεται η συσχέτιση των ανθράκων των καρβονυλίων με τα πρωτόνια Ae και Af των αλκοολών και Be και Bf των οξέων αντίστοιχως. Χαρακτηριστικά, στην περίπτωση των οξέων, διακρίνεται η κορυφή συσχέτισης του καρβονυλίου με τα εστεροποιημένα οξέα Be και ξεχωριστή κορυφή του καρβονυλίου των ελεύθερων οξέων, σε ελαφρώς μεγαλύτερη συχνότητα, με τα ελεύθερα οξέα Bf. Διακρίνεται

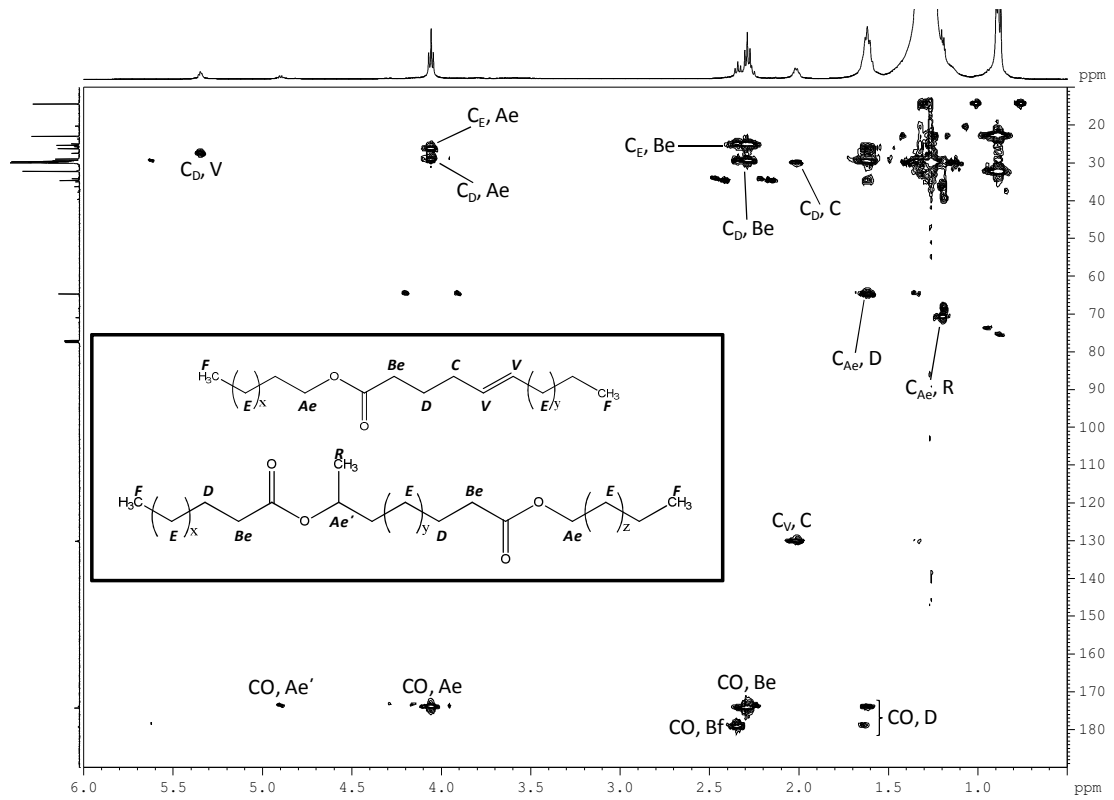
επίσης η χαρακτηριστική συσχέτιση του μεθυλίου R με τους άνθρακες C_A των ω-1 ύδροξυ οξέων και διολών.



Σχήμα 4.4: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται μεγεθυμένες οι περιοχές των καρβονυλίων, των διπλών δεσμών και των ανθράκων των αλκοολών.

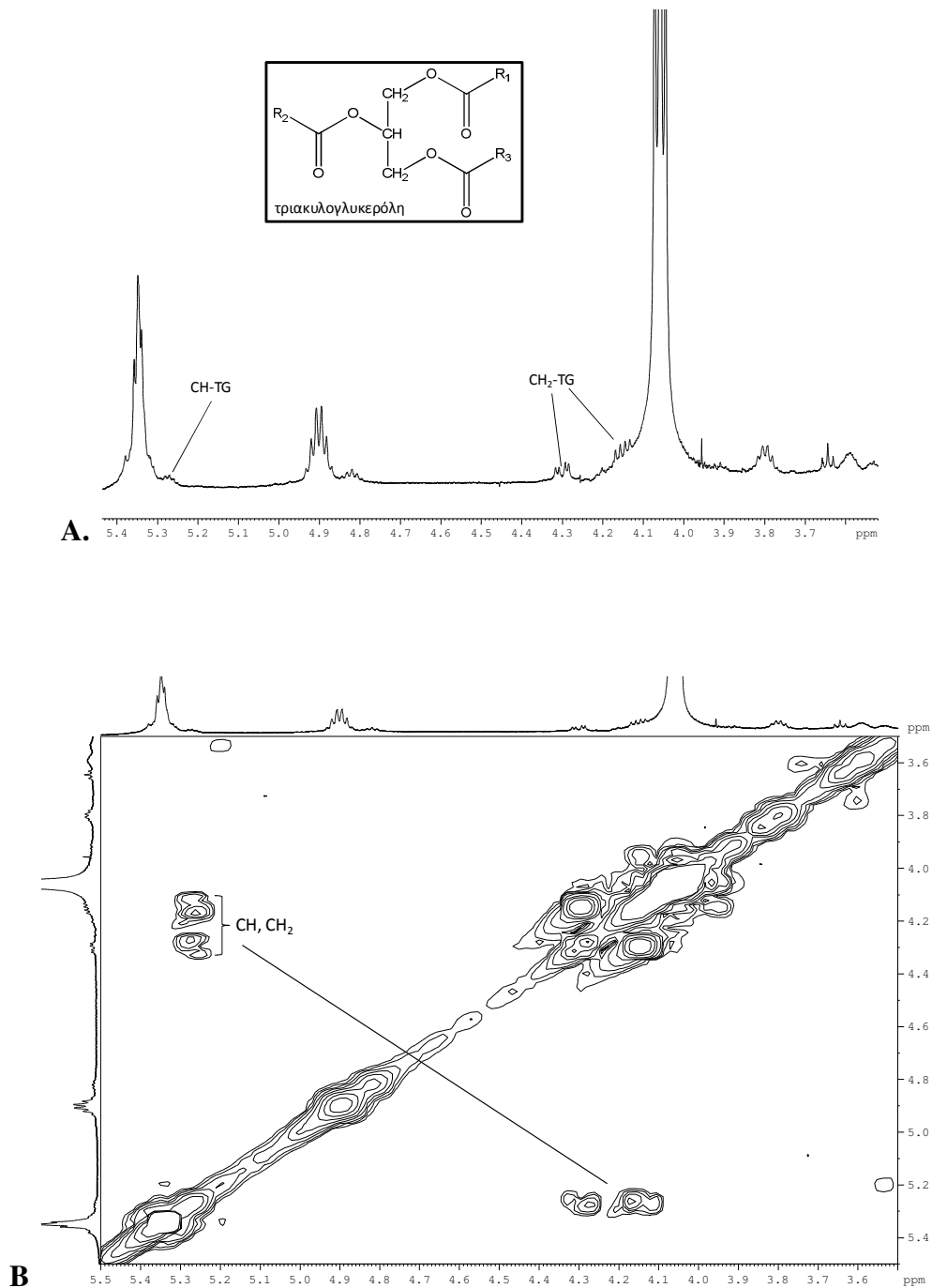


Σχήμα 4.5: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)



Σχήμα 4.6: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

Σε ένα από τα δείγματα κεριού μέλισσας ήταν εμφανής η παρουσία τριγλυκεριδίων (Σχήμα 4.7). Όπως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία τα τριγλυκερίδια δεν αποτελούν συστατικό των κηρών. Είναι όμως πιθανό ένα εμπορικό κεριό να έχει αναμιχθεί με ζωικό ή φυτικό λίπος είτε για τη μείωση του κόστους του (154), ή για την αύξηση της πλαστικότητάς του, καθώς συχνά αποτελεί πρώτη ύλη για γλυπτά (155).



Σχήμα 4.7: Κορυφές τριγλυκεριδίων στα φάσματα A. ^1H NMR και B. ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

Σύμφωνα με την ανάλυση που έγινε παραπάνω, συμπεραίνουμε τις χημικές μετατοπίσεις και αναθέσεις κορυφών που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1. Χαρακτηριστικές κορυφές του κεριού μέλισσας είναι η ύπαρξη ακόρεστων λιπαρών οξέων και ύδροξυ οξέων, καθώς και τα ω -1 μεθύλια των ύδροξυ οξέων και διολών. Η ύπαρξη αυτών των κορυφών σε ένα αρχαιολογικό δείγμα, σε συνδυασμό με την παρουσία κορυφών εστεροποιημένων οξέων και αλκοολών, μπορούν να χαρακτηριστούν ως ένδειξη παρουσίας κηρού μέλισσας.

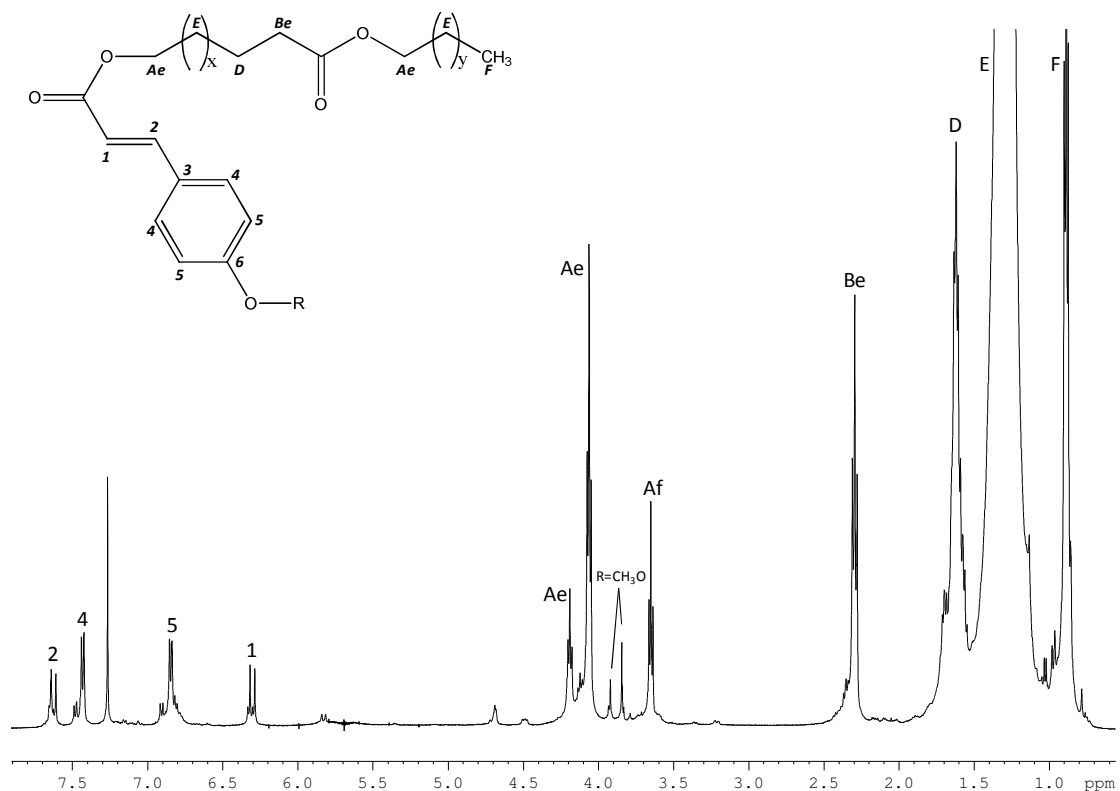
Πίνακας 4.1: Χημικές μετατοπίσεις (δ) και ανάθεση των κυρίων κορυφών στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR κηρού μέλισσας

Κορυφή	$\delta(\text{ppm}) ^1\text{H}$	$\delta(\text{ppm}) ^{13}\text{C}$	Ομάδα	Ανάθεση κορυφής
1 (V)	5.35	130.13	<u>CH</u> =CH	ακόρεστα βινυλικά πρωτόνια
2 (Ae')	4.90	70.9	<u>CH</u> -OCOR	2/ταγής εστεροποιημένη αλκοόλη (ω -1 ύδροξυ οξέων και διολών, διστέρων και τριεστέρων)
3 (Ae)	4.21	61.6	<u>CH₂</u> -OCOR	1/ταγής εστεροποιημένη αλκοόλη (μονοεστέρων, ύδροξυ οξέων, διστέρων και τριεστέρων)
	4.06	64.6		
	3.89	64.6		
4 (Af')	3.58	72.3	<u>CH</u> -OH	2/ταγής ελεύθερη αλκοόλη (ω -1 ύδροξυ οξέων και διολών)
5	3.57	-	OH	ύδροξυ οξέα και αλκοόλες
	3.51			
6 (Bf)	2.34	34.2	<u>CH₂</u> -COOH	ελεύθερα οξέα
7 (Be)	2.29	34.7	<u>CH₂</u> -COOR	εστεροποιημένα οξέα
8 (C)	2.01	26.2	<u>CH₂</u> CH=	αλλυλικά πρωτόνια
9 (D)	1.62	28.9	<u>CH₂</u> CH ₂ COO-	εστέρες, ελεύθερα οξέα και αλκοόλες
10 (E)	1.2-1.4	22-30	- <u>CH₂</u> -	εστέρες, ελεύθερα οξέα και αλκοόλες
11 (R)	1.18	20.3	<u>CH₃</u> -CH-	ω -1 ύδροξυ οξέα, διόλες, εστέρες
12 (F)	0.89	14.4	<u>CH₃</u> -	όλα τα οξέα, αλκοόλες και εστέρες

4.1.2 Κηρός καρνάουμπα

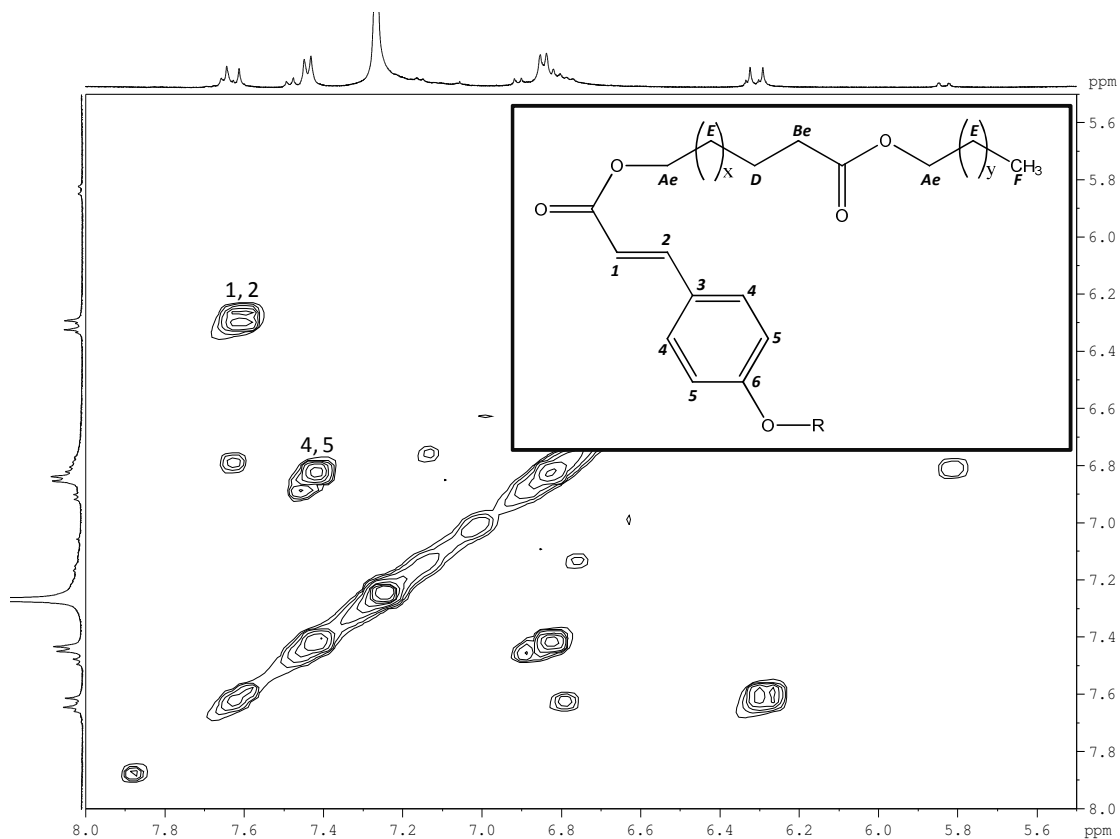
Αναλύθηκαν εμπορικά δείγματα κηρού καρνάουμπα με μονοδιάστατα και δισδιάστατα πειράματα της φασματοσκοπίας NMR. Τα φάσματα παρουσιάζονται παρακάτω στα Σχήμα 4.8-Σχήμα 4.11.

Όπως και την περίπτωση του κεριού μέλισσας, διακρίνονται οι κορυφές Ae και Af και Be και Bf των αλκοολών και οξέων αντίστοιχα, καθώς και οι D, E, της F της ανθρακικής αλυσίδας. Μία διαφορά ανάμεσα στο κεριό καρνάουμπα και το κεριό μέλισσας, που μπορούμε να παρατηρήσουμε άμεσα στο φάσμα ^1H NMR (Σχήμα 4.8), είναι η απουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων, καθώς η κορυφή που αντιστοιχεί σε αυτά είναι πολύ μικρή.

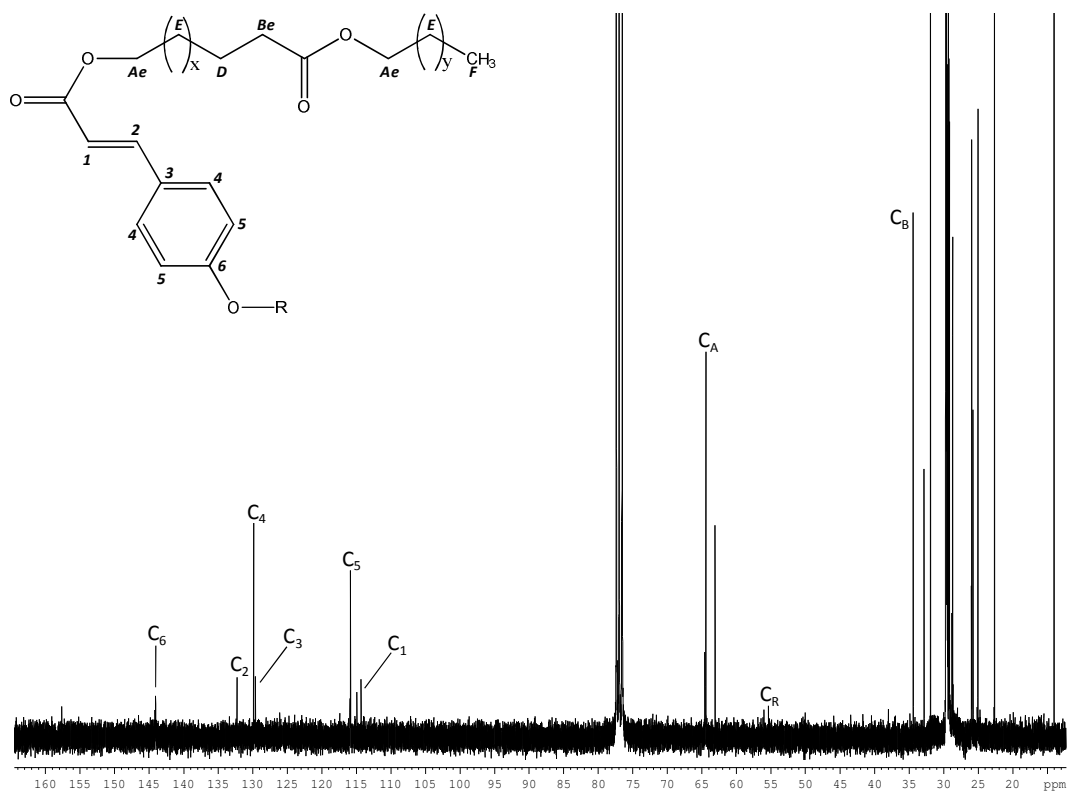


Σχήμα 4.8: Φάσμα ^1H NMR κηρού καρνάουμπα, όπου φαίνεται η ανάθεση κορυφών p-υποκατεστημένου κινναμικού διεστέρα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

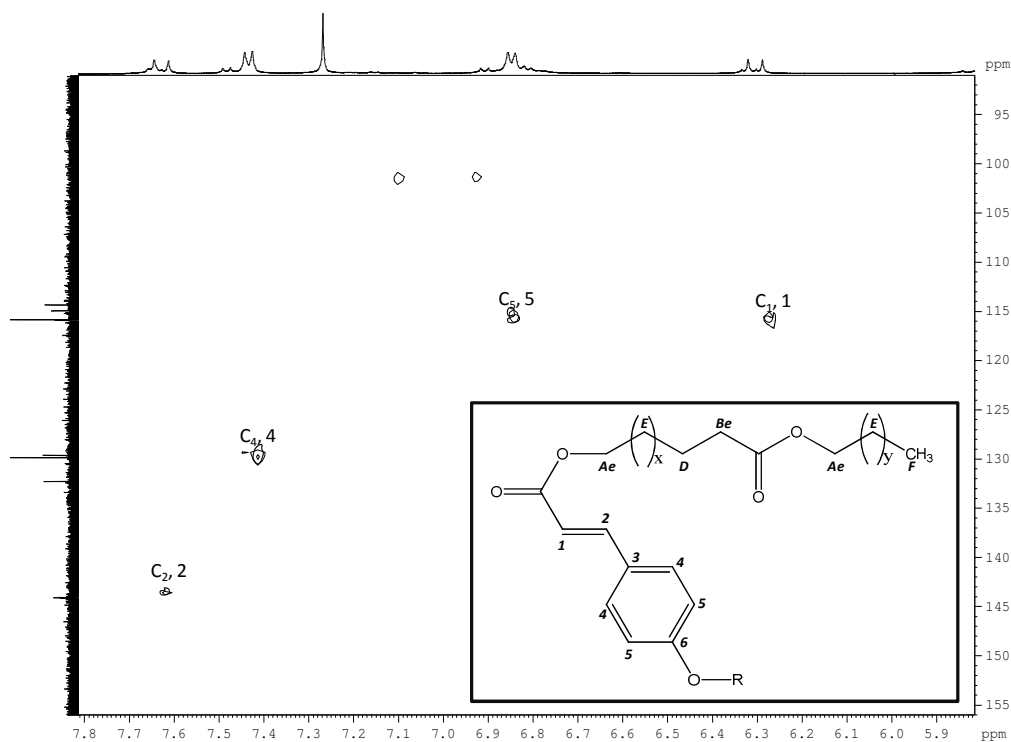
Η δεύτερη παρατήρηση που μπορεί να γίνει για το φάσμα αφορά τα αρωματικά πρωτόνια. Όπως αναφέρθηκε στο δεύτερο κεφάλαιο, το κερι καρνάουμπα περιέχει εστέρες του κινναμικού οξέος. Στο Σχήμα 4.9 φαίνεται το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του κηρού καρνάουμπα, όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των αρωματικών πρωτονίων. Επίσης στα Σχήμα 4.10 και Σχήμα 4.11 παρουσιάζονται τα φάσματα ^{13}C NMR και ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR αντίστοιχα, όπου επιβεβαιώνεται η ανάθεση των αρωματικών κορυφών άνθρακα και πρωτονίου. Διακρίνεται δε και η ύπαρξη μιας δεύτερης ομάδας πρωτονίων, ανάλογων αυτών που έχουν χαρακτηριστεί ως κινναμικό οξύ. Όπως γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία (127), το κερι καρνάουμπα περιέχει εκτός από τις p-μέθοξυ υποκατεστημένες ενώσεις του κινναμικού οξέως, και p-ύδροξυ υποκατεστημένο κινναμικό οξύ, στις οποίες συμπεραίνουμε οφείλονται οι κορυφές της δεύτερης ομάδας των αρωματικών πρωτονίων που διακρίνονται.



Σχήμα 4.9: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των αρωματικών πρωτονίων



Σχήμα 4.10: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)



Σχήμα 4.11: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται οι συσχετίσεις των αρωματικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους

Οι κορυφές του τριτερπενίου καρναουμπαδιόλη, που αναφέρθηκε στο δεύτερο κεφάλαιο, δεν είναι διακριτές στα φάσματά μας, καθώς τα υπόλοιπα μόρια στο κερί καρνάουμπα είναι σε μεγάλη αφθονία με αποτέλεσμα να επικαλύπτουν τις κορυφές του τριτερπενίου. Στον Πίνακα 2.1 παρουσιάζονται οι χημικές μετατοπίσεις (δ) και η ανάθεση των κυρίων κορυφών στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR στο κερί καρνάουμπα.

Πίνακας 4.2: Χημικές μετατοπίσεις (δ) και ανάθεση των κυρίων κορυφών στα φάσματα ^1H και ^{13}C NMR κηρού καρνάουμπα

Κορυφή	$\delta(\text{ppm})$ ^1H	$\delta(\text{ppm})$ ^{13}C	Ομάδα	Ανάθεση κορυφής
1	6.3	116.1	$\underline{\text{CH}}=\text{CH}$	κινναμικό οξύ
2	7.6	144.1	$\underline{\text{CH}}=\text{CH}$	κινναμικό οξύ
3	–	132.2	$-\underline{\text{C}}=\text{C}-$	κινναμικό οξύ
4	7.4	129.8	$\underline{\text{CH}}=\text{CH}$	κινναμικό οξύ
5	6.8	115.8	$\underline{\text{CH}}=\text{CH}$	κινναμικό οξύ
6	–	157.6	$-\underline{\text{C}}-\text{O}$	κινναμικό οξύ
7 (Ae)	4.2 4.05	64.1 63.6	$\underline{\text{CH}}_2-\text{OCOR}$	1/ταγής εστεροποιημένη αλκοόλη
8	3,8	57.5	$\underline{\text{CH}}_3\text{O}-$	μέθοξυ ομάδα
9 (Af)	3.6	62.2	$\underline{\text{CH}}_2-\text{OH}$	ελεύθερη αλκοόλη
10 (Bf)	2.3	33.8	$\underline{\text{CH}}_2-\text{COOH}$	ελεύθερα οξέα
11 (Be)	2.2	32.9	$\underline{\text{CH}}_2-\text{COOR}$	εστεροποιημένα οξέα
12 (C)	2.02	26.7	$\underline{\text{CH}}_2\text{CH}=\text{}$	αλλυλικά πρωτόνια
13 (D)	1.2-1.4	22-30	$\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_2\text{COO}-$	εστέρες, ελεύθερα οξέα και αλκοόλες
14 (E)	1.18	20.3	$-\underline{\text{CH}}_2-$	εστέρες, ελεύθερα οξέα και αλκοόλες
15 (F)	0.89	14.4	$\underline{\text{CH}}_3-$	όλα τα οξέα, αλκοόλες και εστέρες

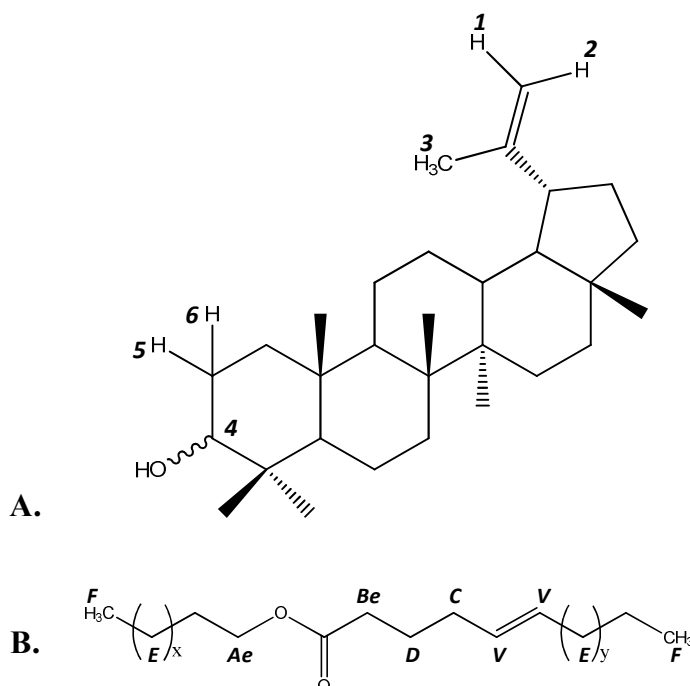
4.1.3 Κηρός καντέλιλλα

Αναλύθηκαν επίσης εμπορικά δείγματα κεριού καντέλιλλα με μονοδιάστατα και δισδιάστατα πειράματα της φασματοσκοπίας NMR, τα φάσματα των οποίων παρουσιάζονται παρακάτω (Σχήμα 4.13-Σχήμα 4.16).

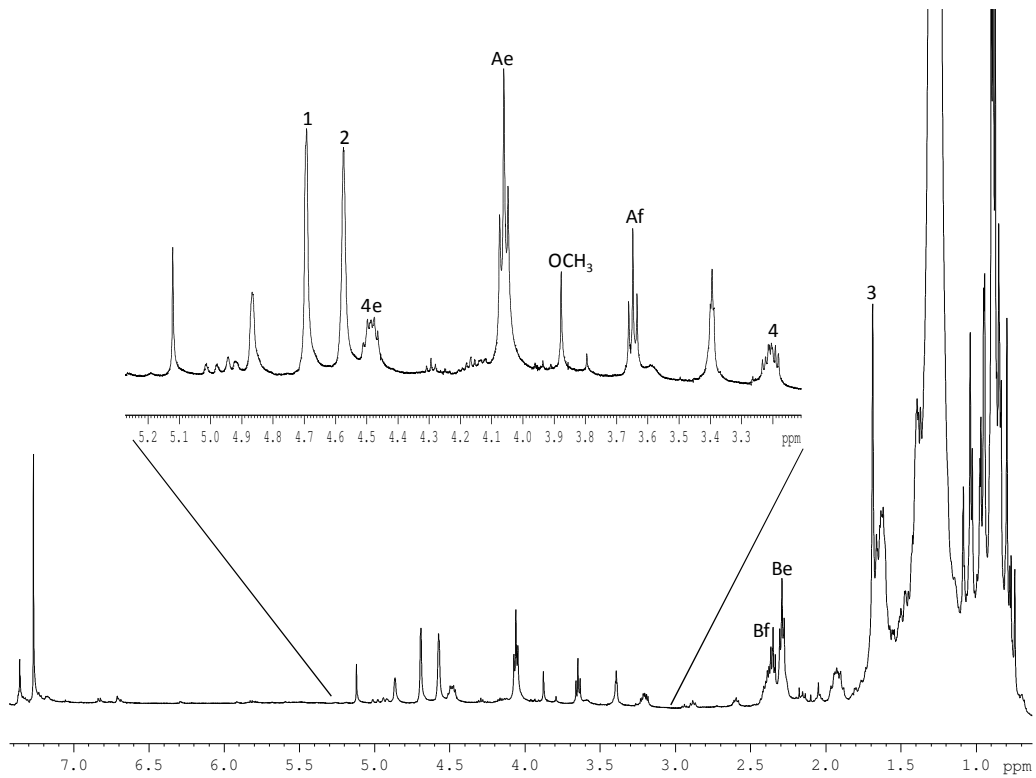
Το φάσμα του κεριού καντέλιλλα είναι πιο πολύπλοκο από τα προηγούμενα, καθώς το κύριο συστατικό του δεν είναι μόνο οι υδρογονάνθρακες, αλλά και τριτερπενοειδείς ενώσεις (131).

Καθώς γνωρίζουμε πως περιέχονται παράγωγα της λουπεόλης, έχει γίνει μια προσπάθεια ταυτοποίησης κάποιων κορυφών της (Σχήμα 4.12). Παρότι δεν είναι δυνατόν να γίνει πλήρης ανάθεση των κορυφών του μορίου, καθώς οι κορυφές της αλληλεκαλύπτονται με κορυφές των υπολοίπων συστατικών του δείγματος, στα Σχήμα 4.15 και Σχήμα 4.16, φαίνεται η ανάθεση των κορυφών του διπλού δεσμού καθώς και της αλκοολικής άκρης του μορίου.

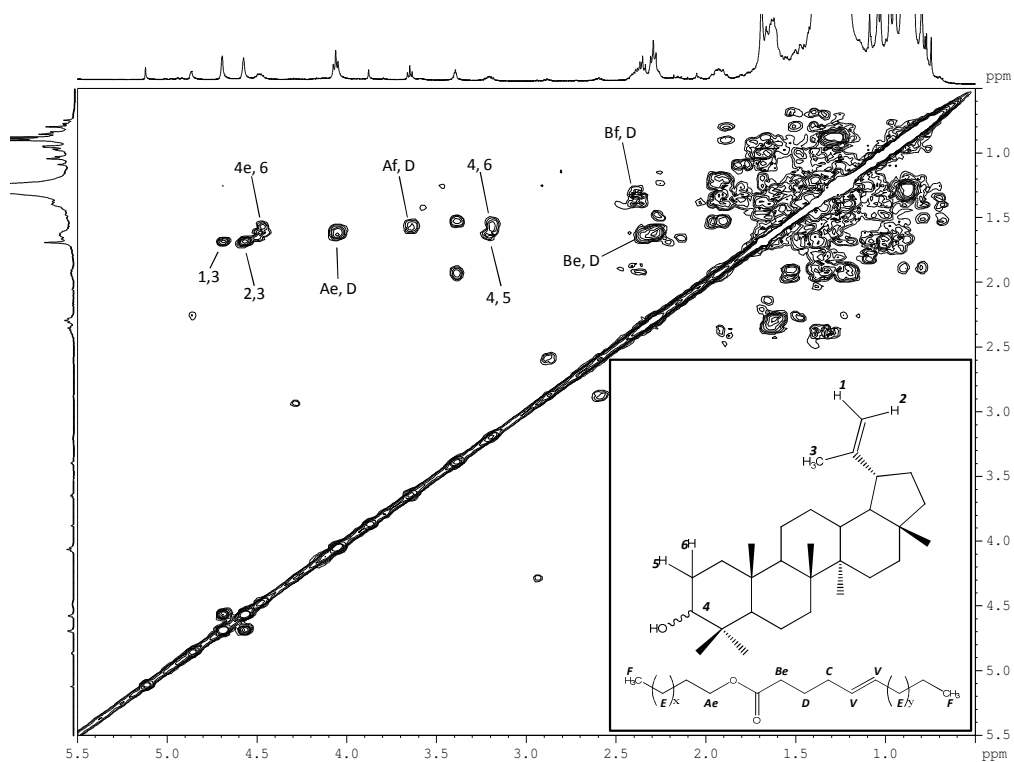
Διακρίνονται επίσης οι κλασσικές κορυφές των εστέρων των κεριών Ae και Af και Be και Bf, από τις αλκοόλες και οξέα αντίστοιχα, καθώς και κορυφές που αντιστοιχούν στην ομάδα μέθοξυ.



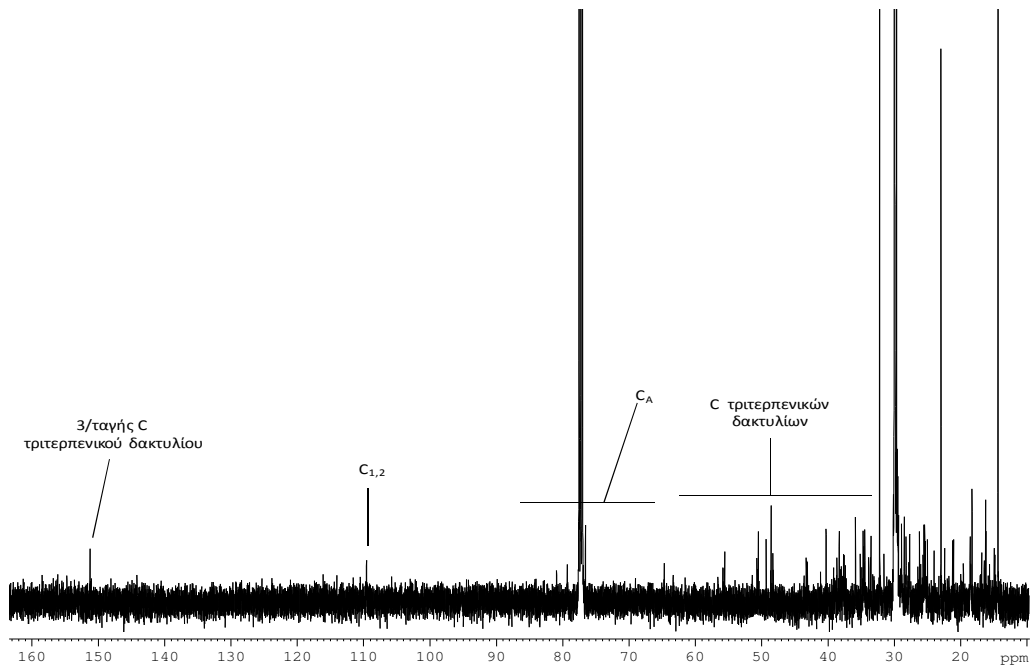
Σχήμα 4.12: Ανάθεση κορυφών A. λουπεόλης και B. εστέρα κηρού



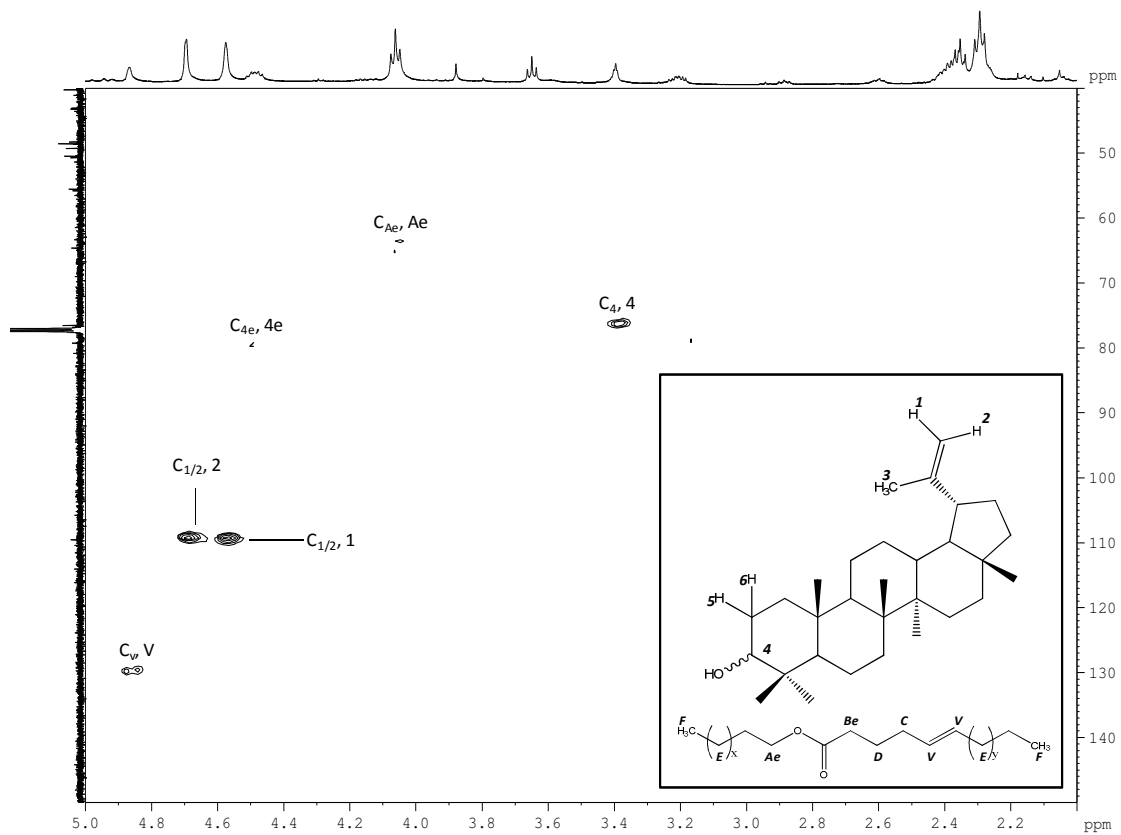
Σχήμα 4.13: Φάσμα ^1H NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου φαίνονται κάποιες χαρακτηριστικές κορυφές της λουπεόλης



Σχήμα 4.14: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)



Σχήμα 4.15: Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)



Σχήμα 4.16: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

4.2 Τερπενοειδείς Ρητίνες

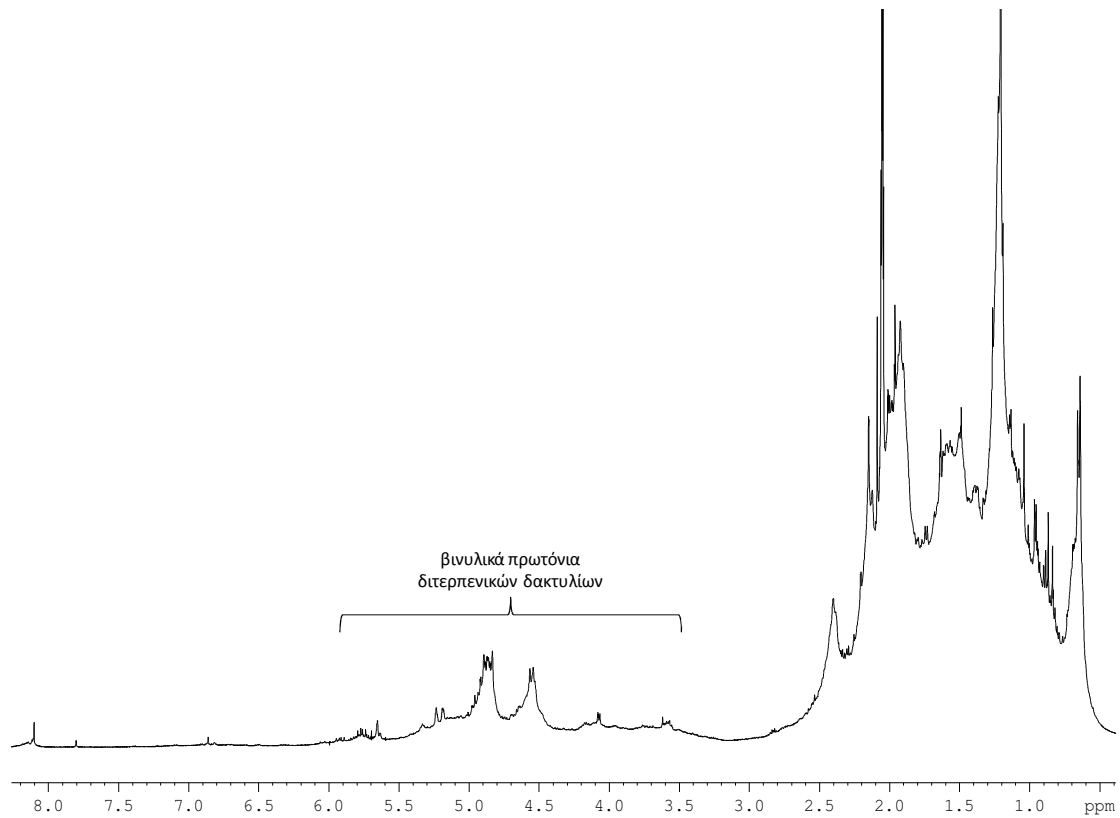
4.2.1 Διτερπενοειδείς ρητίνες

Όλες οι διτερπενοειδείς ρητίνες αποτελούνται από μίγματα διτερπενικών ενώσεων, καθώς και μονοτερπενικών ενώσεων, αλλά και πολυμερισμένες τους μορφές. Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα NMR των διτερπενικών ρητινών σανδαράχη και κοπάλιο. Τα φάσματα τους, όπως θα περίμενε κανείς από ένα τέτοιο πολύπλοκο μίγμα μορίων, είναι περίπλοκα και δεν είναι δυνατή η ταυτοποίηση όλων των κορυφών τους. Έχουν επιλεχθεί όμως τμήματα μορίων, που γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία πως περιέχονται στις εν λόγω ρητίνες, εύκολα αναγνωρίσιμα με τη φασματοσκοπία NMR, τα οποία και συζητούνται παρακάτω.

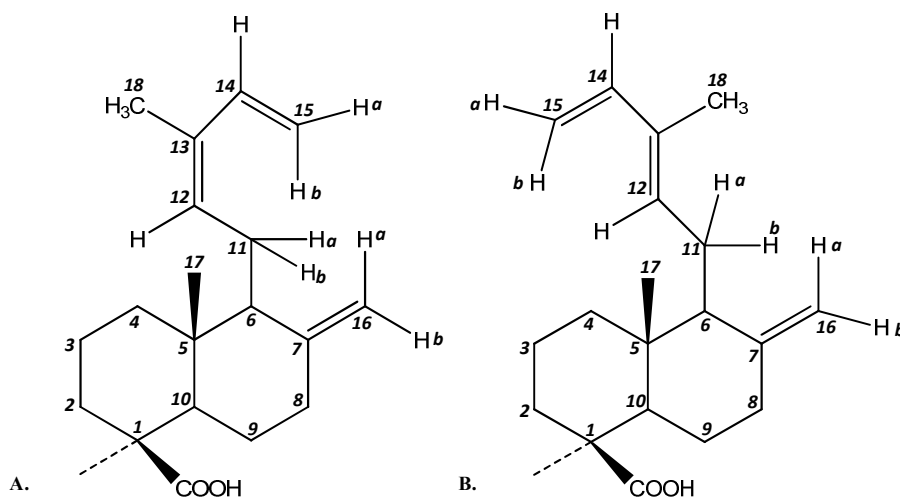
4.2.1.1 Σανδαράχη

Λήφθηκαν φάσματα NMR μίας και δύο διαστάσεων εμπορικών δειγμάτων ρητίνης σανδαράχης. Στο Σχήμα 4.17 φαίνεται το φάσμα ^1H NMR, όπου είναι εύκολο να διαπιστωθεί η πολυπλοκότητά του. Προκειμένου να γίνει ταυτοποίηση κορυφών, επιστρατεύτηκαν οι δισδιάστατες τεχνικές ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR, σύζευξης πρωτονίου, καθώς και ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR και ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR, σύζευξης πρωτονίου άνθρακα βραχέος και μακράς εμβέλειας αντίστοιχα.

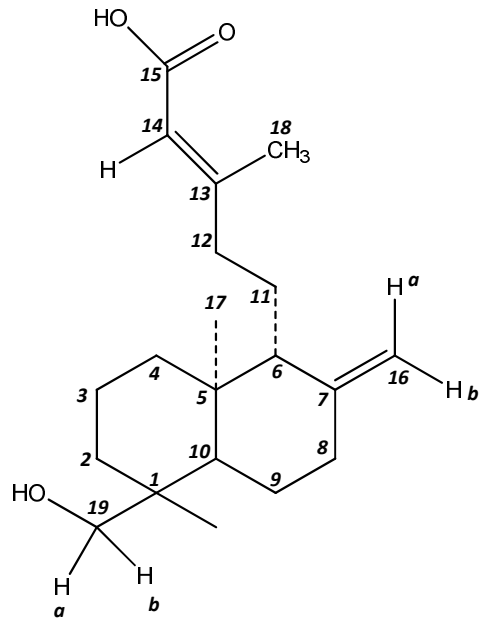
Όπως γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία (βλέπε Κεφάλαιο 2), το κύριο συστατικό της ρητίνης σανδαράχη είναι το κομμουνικό οξύ (Σχήμα 4.18), καθώς και τα προϊόντα πολυμερισμού του. Στο Σχήμα 4.20 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D, όπου έχουν σημειωθεί οι κορυφές σύζευξης των βινυλικών πρωτονίων του κομμουνικού οξέος. Αξίζει να αναφερθεί επίσης η αναγνώριση κορυφής του αγαθολικού οξέος (Σχήμα 4.19), ένα μόριο που περιέχεται σε πολλές διτερπενοειδείς ρητίνες.



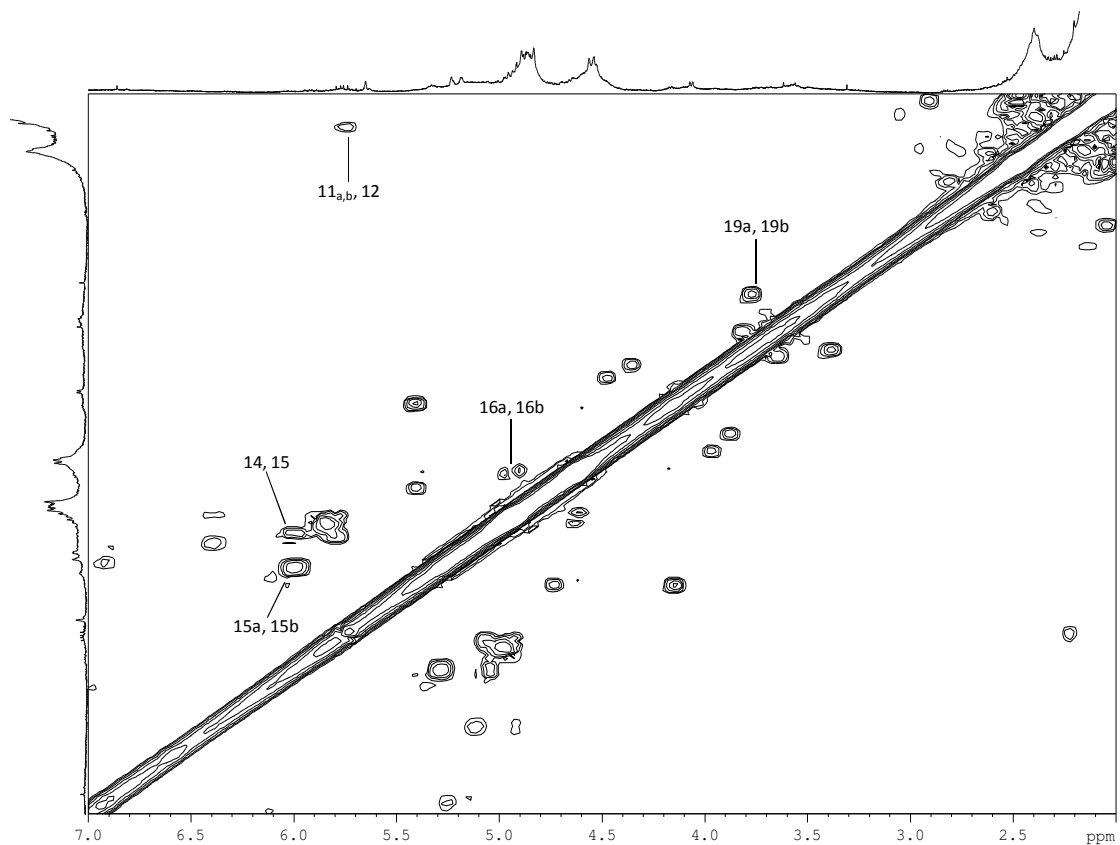
Σχήμα 4.17: Φάσμα ^1H NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται τα βινυλικά πρωτόνια των διτερπενικών μορίων



Σχήμα 4.18: *Cis* (A) και *trans* (B) κομμουνικό οξύ, κύρια διτερπενικά συστατικά της ρητίνης σανδαράχης



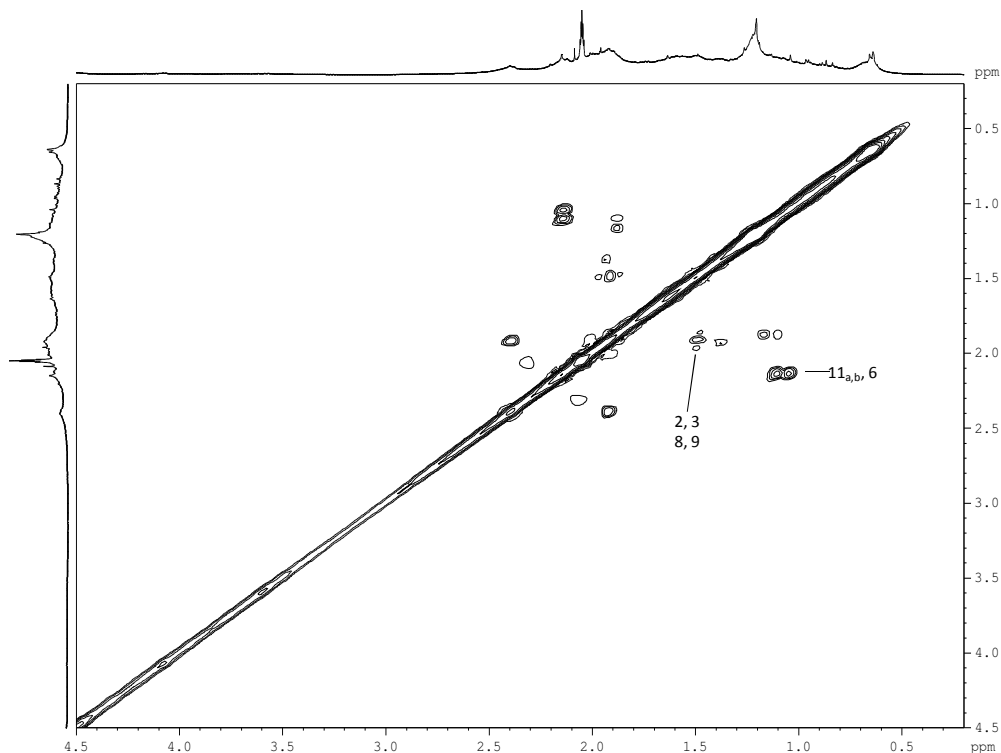
Σχήμα 4.19: Αγαθολικό οξύ, συστατικό διτερπενικών ρητινών



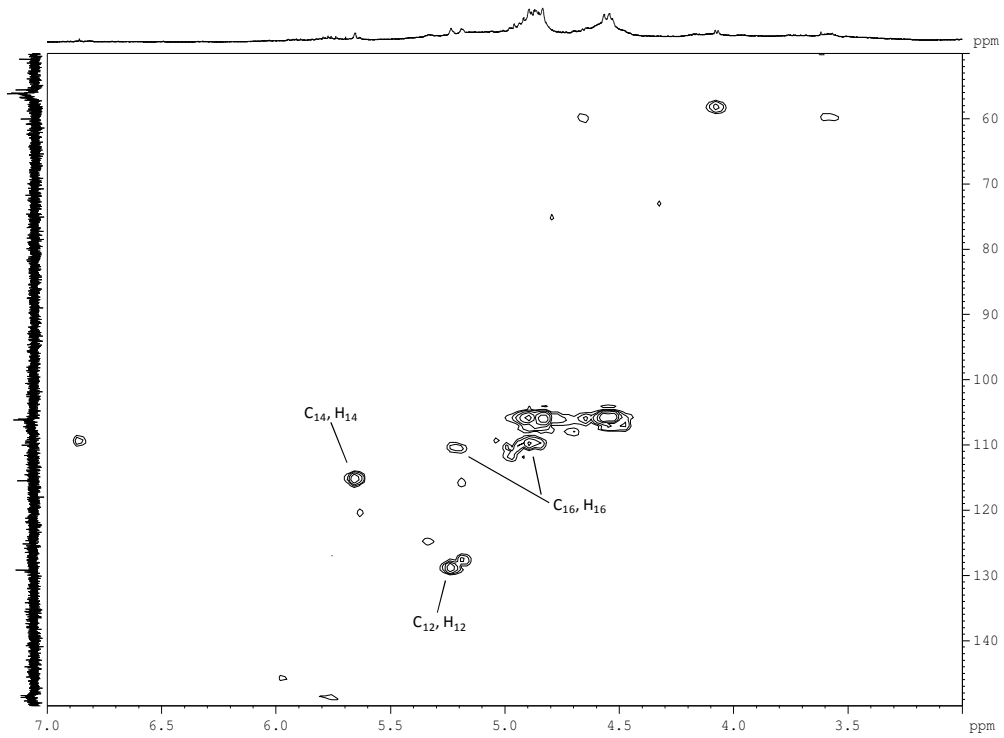
Σχήμα 4.20: Φάσμα $^1\text{H}-^1\text{H}$ gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των βινυλικών πρωτονίων του κομμουνικού οξέος (11, 12, 14, 15, 16) καθώς και χαρακτηριστικών πρωτονίων του αγαθολικού οξέος (19)

Καθώς ο τελικός σκοπός μας είναι η ταυτοποίηση των ρητινών σε αρχαιολογικά/ιστορικά δείγματα, τα οποία με το πέρασ του χρόνου έχουν υποστεί αλλοιώσεις γήρανσης, κρίναμε αναγκαίο να γίνουν και κάποιες ταυτοποιήσεις κορυφών στην περιοχή των αλειφατικών πρωτονίων όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των πρωτονίων της διτερπενικής κυκλικής δομής. (Σχήμα 4.21). Κατά τη γήρανση των διτερπενικών ρητινών, μία από τις αλλοιώσεις που παρατηρείται είναι η οξείδωση των διπλών δεσμών (156), (157), οπότε οι βινυλικές κορυφές που ταυτοποιήθηκαν παραπάνω είναι δυνατόν να μην παρατηρηθούν σε ένα παλαιό δείγμα.

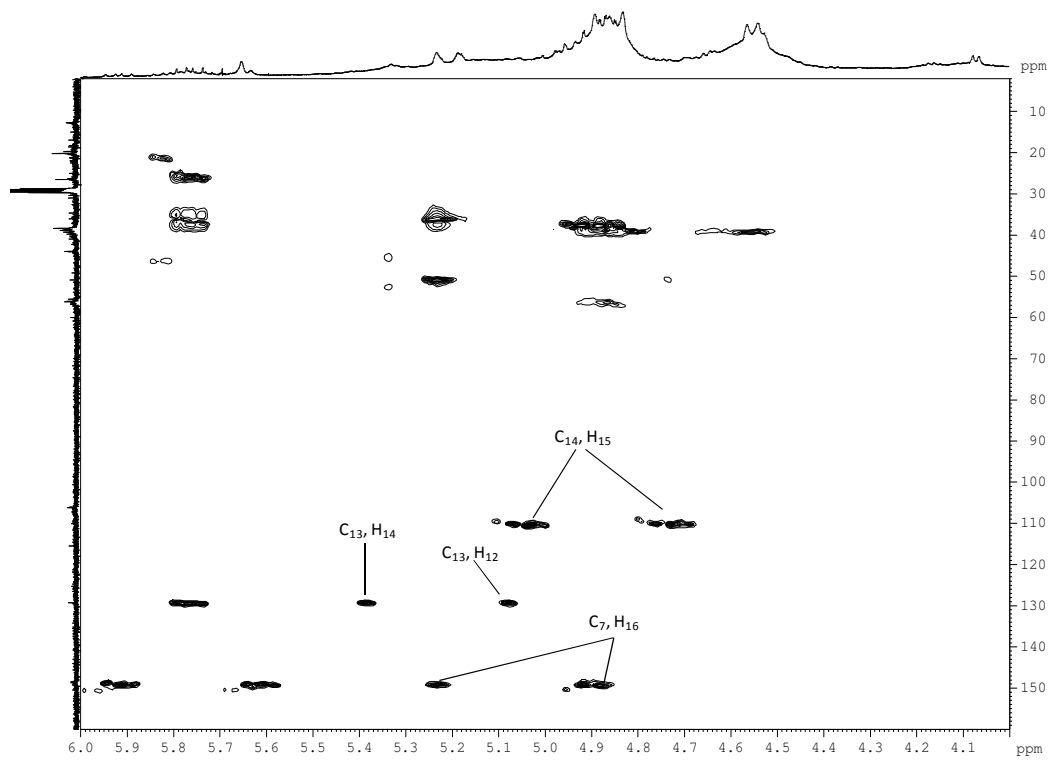
Τέλος, στα Σχήμα 4.22 και Σχήμα 4.23, παρουσιάζονται τα φάσματα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR και ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR αντίστοιχα, όπου επιβεβαιώνονται οι αναθέσεις των βινυλικών πρωτονίων και ανθράκων του κομμουνικού οξέος.



Σχήμα 4.21: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των πρωτονίων της διτερπενικής κυκλικής δομής



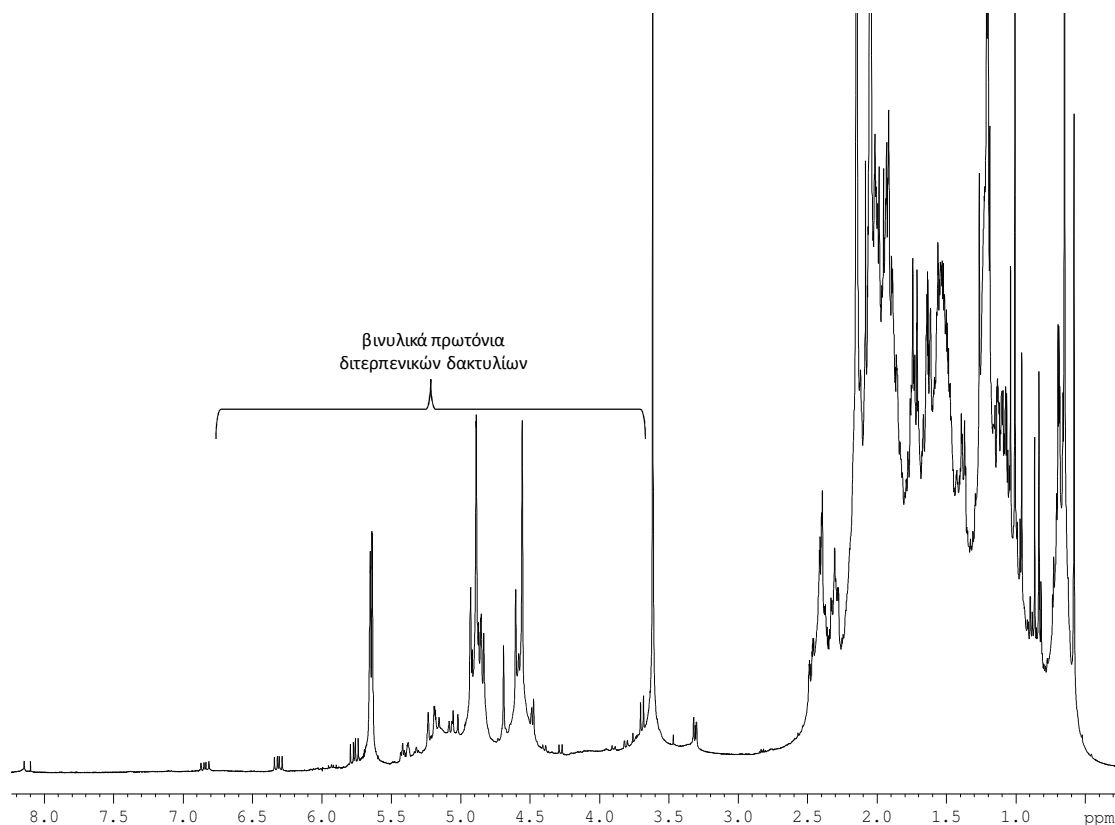
Σχήμα 4.22: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης σανδαράχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συζεύξεις βινυλικών πρωτονίων του κομμουνικού οξέως με τους άνθρακες τους



Σχήμα 4.23: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

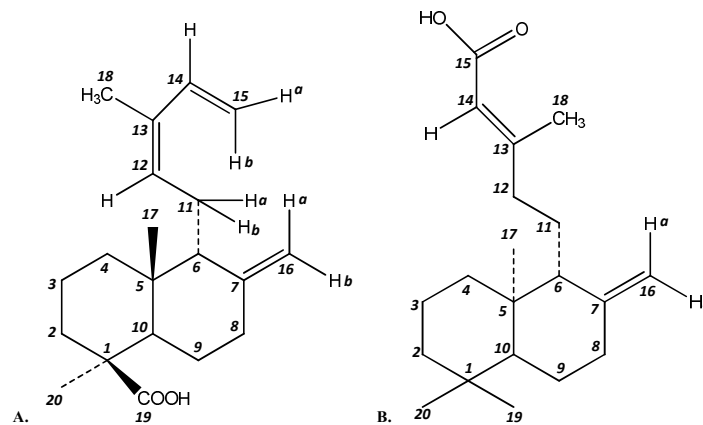
4.2.1.2 Κοπάλιο

Λήφθηκαν φάσματα NMR μίας και δύο διαστάσεων εμπορικών δειγμάτων ρητίνης κοπαλίου. Στο Σχήμα 4.24 διακρίνουμε το φάσμα ^1H NMR. Προκειμένου να γίνει ταυτοποίηση κορυφών συγκεκριμένων μορίων, χρησιμοποιήθηκαν οι δισδιάστατες τεχνικές ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR (Σχήμα 4.26 και Σχήμα 4.27) σύζευξης πρωτονίου, καθώς και ^1H - ^{13}C gHMOC 2D NMR (Σχήμα 4.28) σύζευξης πρωτονίου άνθρακα βραχέος και μακράς εμβέλειας αντίστοιχα (για το φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR, βλέπε παράρτημα).

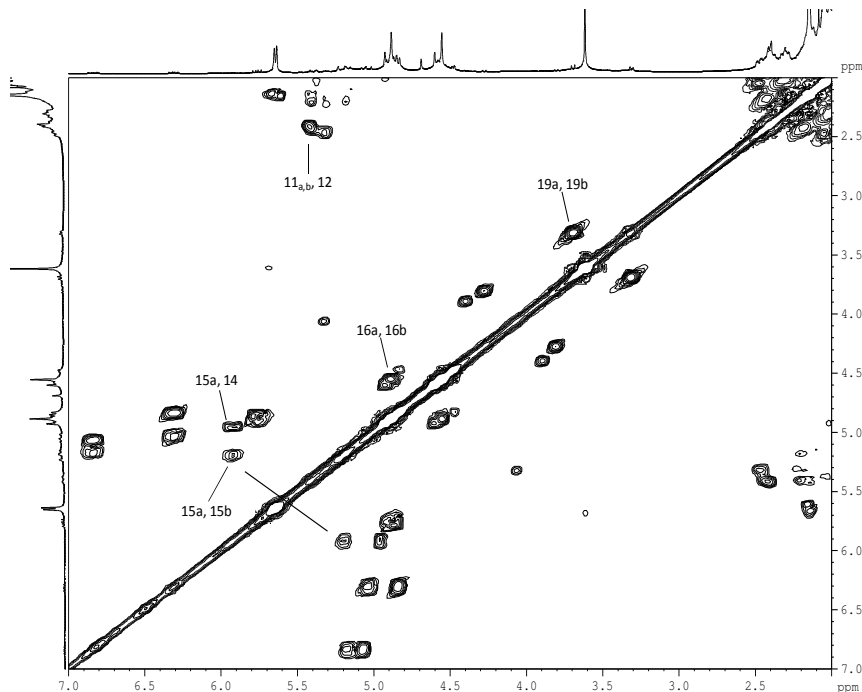


Σχήμα 4.24: Φάσμα ^1H NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη-d₆

Όπως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία (βλέπε Κεφάλαιο 2), τα κύρια συστατικά της ρητίνης των κοπαλίων είναι το *cis*-οζικό οξύ και το κοπαλικό οξύ (Σχήμα 4.25), οι κορυφές των οποίων έχουν ανιχνευθεί στα φάσματά μας. Συγκεκριμένα, στο φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D (Σχήμα 4.26), έχουν σημειωθεί οι κορυφές σύζευξης των βινυλικών πρωτονίων του *cis*-οζικού και του κοπαλικού οξέος. Επίσης, όπως και στην περίπτωση της σανδαράχης, έχει γίνει αναγνώριση κορυφής του αγαθολικού οξέος (Σχήμα 4.19).

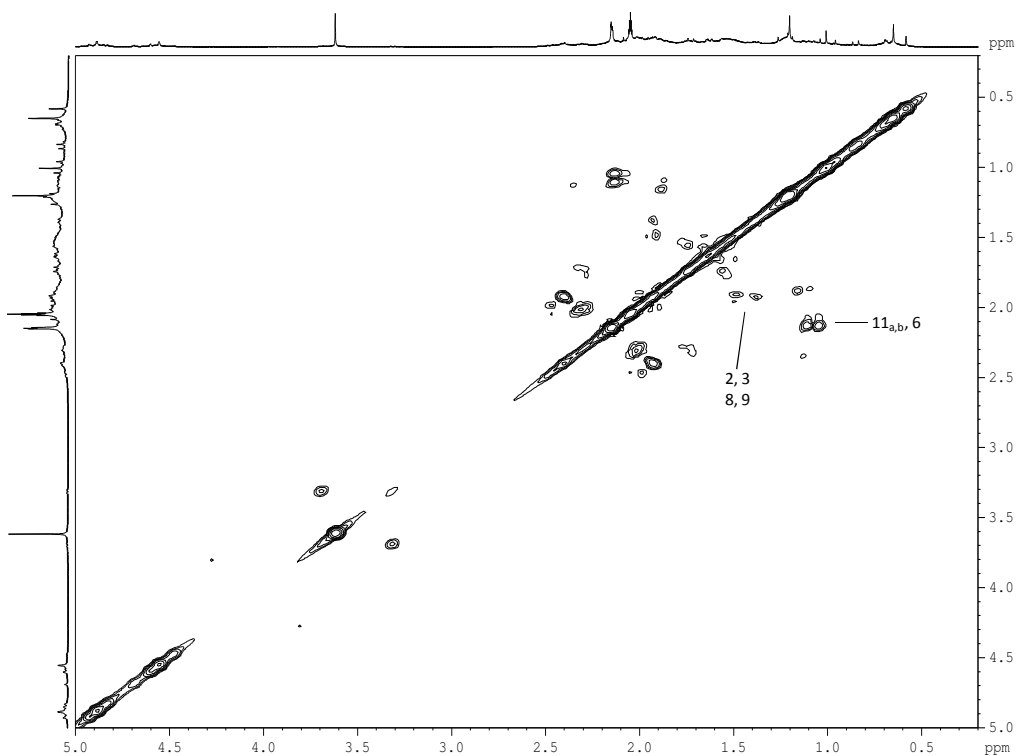


Σχήμα 4.25: *Cis*-οζικό (A) και κοπαλικό οξύ (B), κύρια διτερπενικά συστατικά της ρητίνης κοπάλιο

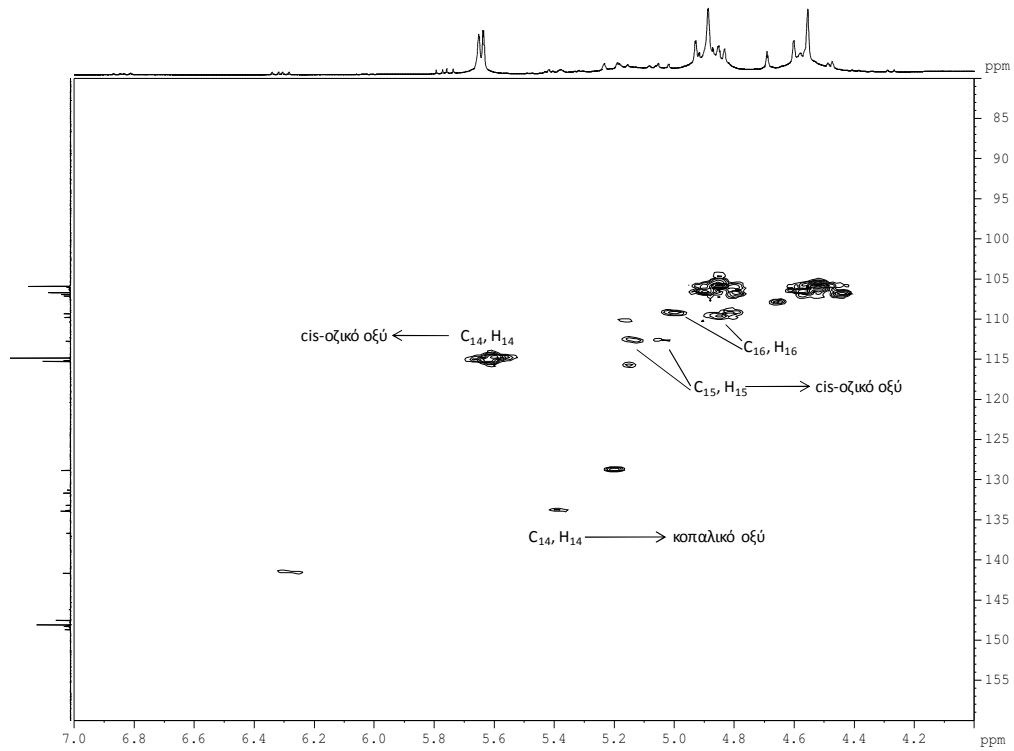


Σχήμα 4.26: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των βινυλικών πρωτονίων

Στο Σχήμα 4.27 διακρίνεται η περιοχή των αλειφατικών πρωτονίων ώστε αν σε ένα παλαιό δείγμα οι διπλοί δεσμοί έχουν υποστεί οξείδωση, να έχουμε να μπορούμε να κάνουμε ταυτοποίηση της ρητίνης μέσω της διτερπενικής κυκλικής δομής, όπως και στην περίπτωση της σανδαράχης. Τέλος, στο Σχήμα 4.28, παρουσιάζεται το φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D, όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των βινυλικών πρωτονίων του cis-οζικού και του κοπαλικού οξέος με τους άνθρακες τους



Σχήμα 4.27: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συσχετισμοί των πρωτονίων της διτερπενικής κυκλικής δομής



Σχήμα 4.28: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της διτερπενικής ρητίνης κοπάλιο σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται οι συζεύξεις βινυλικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους

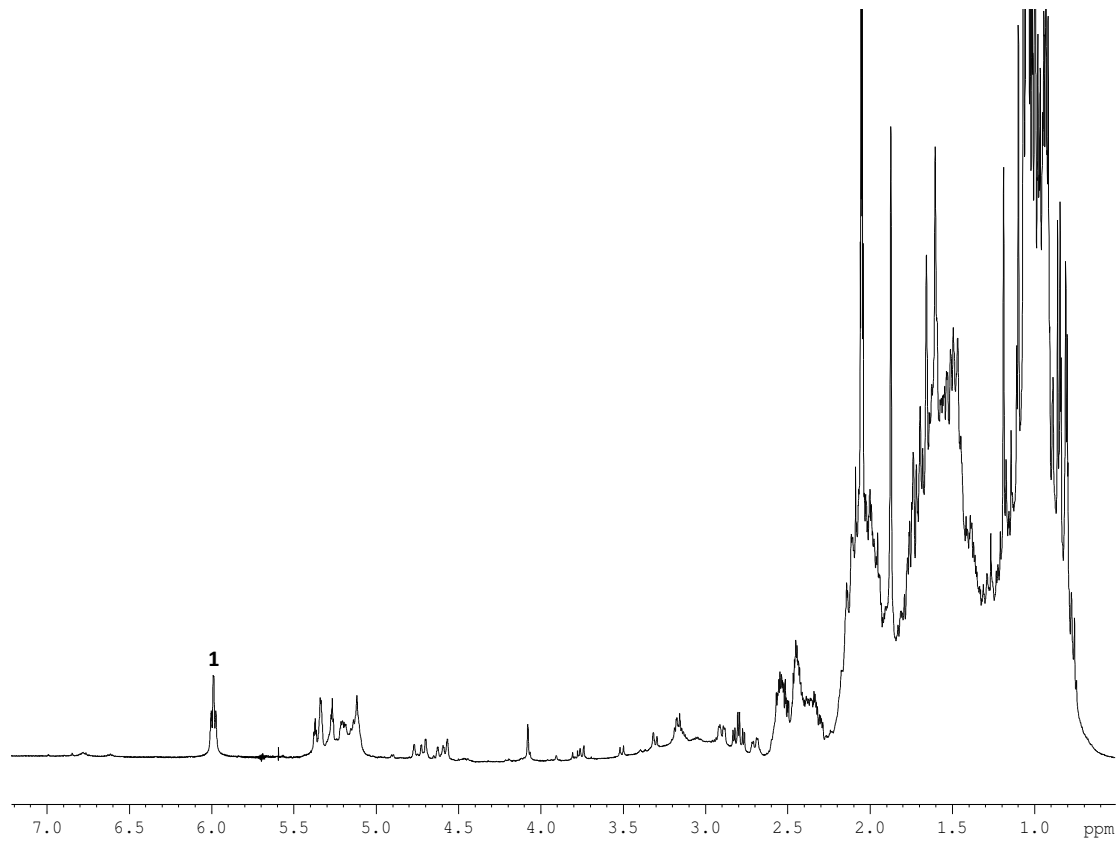
4.2.2 Τριτερπενοειδείς ρητίνες

Όλες οι τριτερπενοειδείς ρητίνες αποτελούνται από μίγματα τριτερπενικών ενώσεων, καθώς και μονοτερπενικών, αλλά και τα πολυμερισμένα τους προϊόντα. Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα NMR των τριτερπενικών ρητινών μαστίχη και δάμμαρη. Τα φάσματα τους, όπως θα περίμενε κανείς από ένα τέτοιο πολύπλοκο μίγμα μορίων, είναι περίπλοκα και δεν είναι δυνατή η ταυτοποίηση όλων των κορυφών τους. Έχουν επιλεχθεί όμως τμήματα μορίων, που γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία πως περιέχονται στις εν λόγω ρητίνες, εύκολα αναγνωρίσιμα με τη φασματοσκοπία NMR, τα οποία και συζητούνται παρακάτω.

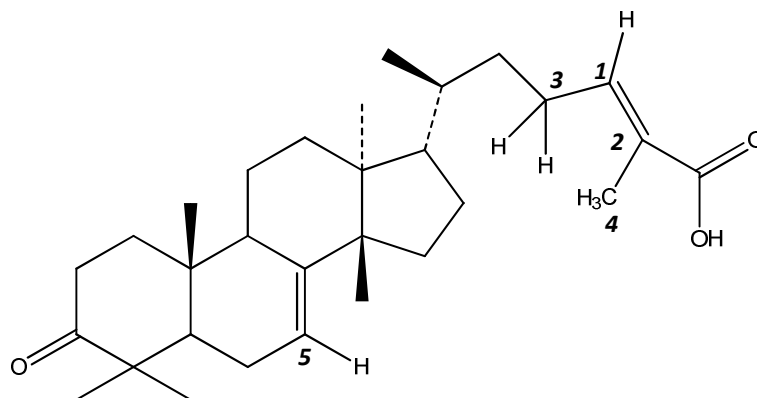
4.2.2.1 Μαστίχη

Η μαστίχη ανήκει στις τριτερπενοειδείς ρητίνες και η σύστασή της είναι ιδιαίτερα περίπλοκη. Εκτός από τα τριτερπενικά μόρια που περιέχει, έχουν ανιχνευθεί μονοτερπενικές ενώσεις, καθώς και προϊόντα πολυμερισμού αυτών, αλλά και φλαβονοειδείς ενώσεις.

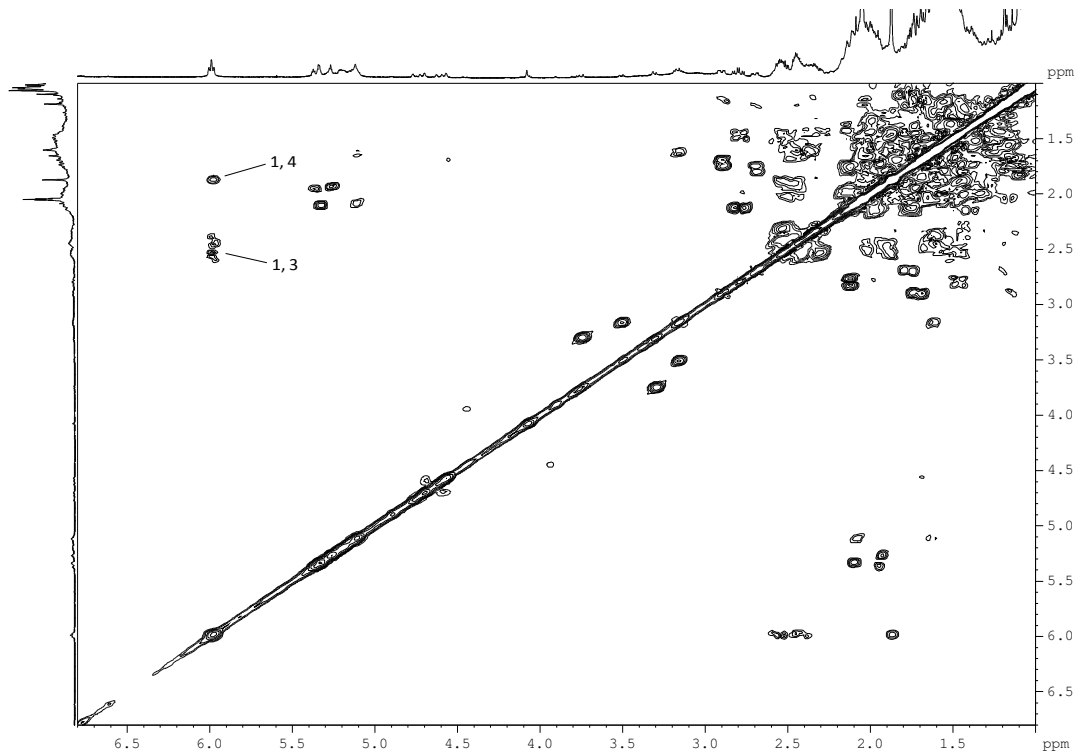
Ένα από τα κύρια συστατικά της μαστίχης είναι το μαστιχαδιενονικό οξύ (Σχήμα 4.30). Στο Σχήμα 4.29 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR της μαστίχης και στο Σχήμα 4.31 το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR όπου φαίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές του μαστιχαδιενονικού οξέος. Το μαστιχαδιενονικό οξύ παρουσιάζει μια χαρακτηριστική κορυφή στα 6 ppm, η οποία διακρίνεται σε όλα τα φάσματα. Αξίζει να σημειωθεί πως αυτή είναι η κορυφή που διαχωρίζει τη ρητίνη μαστίχης από όλες τις υπόλοιπες ρητίνες που έχουν αναλυθεί, καθώς καμία άλλη δεν περιέχει παράγωγα μαστιχαδιενονικού οξέος. Στο Σχήμα 4.32 παρουσιάζεται επίσης το φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR συσχέτισης πρωτονίου άνθρακα, όπου επίσης διακρίνεται η χαρακτηριστική κορυφή του C_1 (χαρακτηριστική κορυφή του μαστιχαδιενονικού οξέος), όπως έχει ονομαστεί για της ανάγκες της παρούσας διατριβής, με το H_1 .



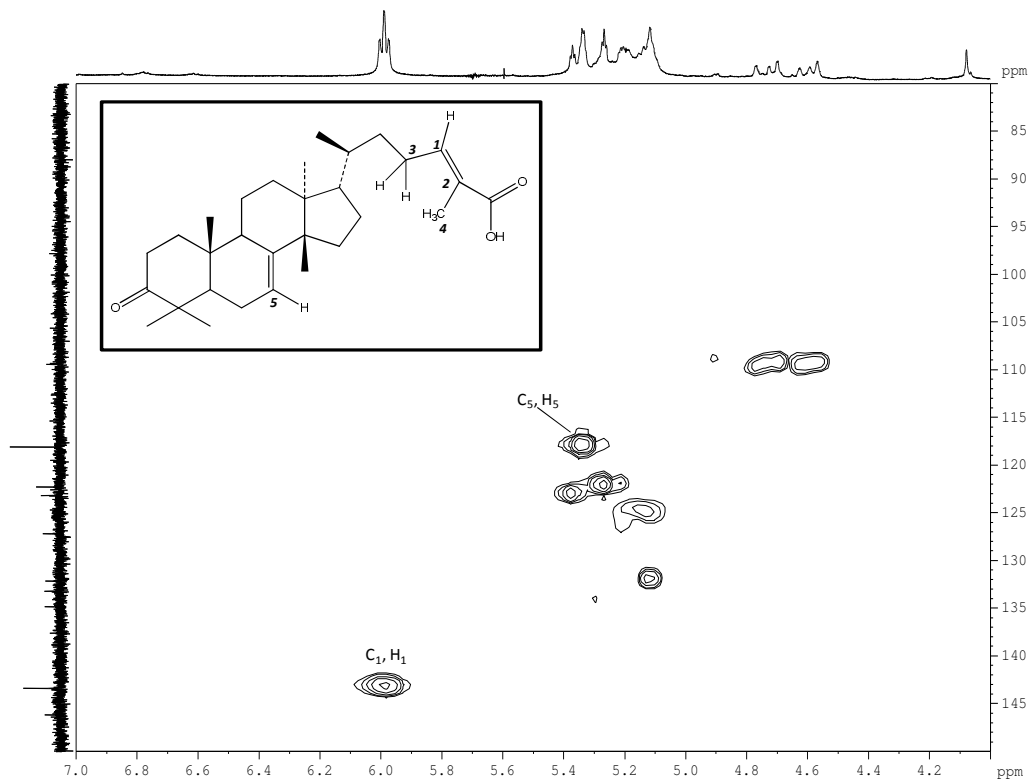
Σχήμα 4.29: Φάσμα ^1H NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Σχήμα 4.30: Μαστιχαδιενονικό οξύ, χαρακτηριστικό τριτερπενικό συστατικό της ρητίνης μαστίχη

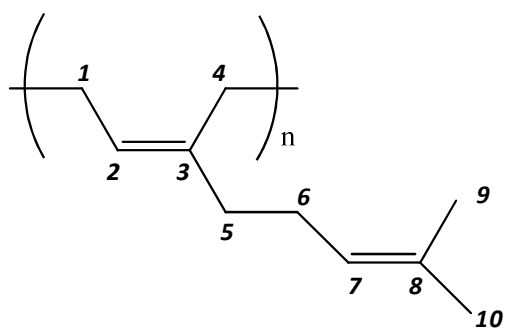


Σχήμα 4.31: Φάσμα $^1\text{H}-^1\text{H}$ gCOSY 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται κορυφές του μαστιχαδιενονικού οξέος



Σχήμα 4.32: Φάσμα $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ gHMQC 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης μαστίχη σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6 , όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές του μαστιχαδιενονικού οξέος

Γενικά στα φάσματα της μαστίχης διακρίνεται πληθώρα βινυλικών πρωτονίων. Αυτό όμως που διαφέρει σε σύγκριση με τα βινυλικά πρωτόνια των διτερπενοειδών ρητινών, είναι πως στα φάσματα $^1\text{H}-^1\text{H}$ gCOSY 2D NMR δε φαίνεται να υπάρχει σύζευξη μεταξύ τους, δε βρίσκονται δηλαδή σε γειτονικές θέσεις, γεγονός αναμενόμενο από τις δομές των τριτερπενικών ενώσεων. Καθώς όμως ο αριθμός των διπλών δεσμών δεν μπορεί να δικαιολογηθεί από την παρουσία τριτερπενικών μορίων, συμπεραίνουμε πως πιθανόν προέρχονται από προϊόντα πολυμερισμού μονοτερπενικών ενώσεων, όπως για παράδειγμα το 1, 4 πολύ - β-μυρκένιο (Σχήμα 4.33), το οποίο γνωρίζουμε πως είναι συστατικό της μαστίχης (158) (159).



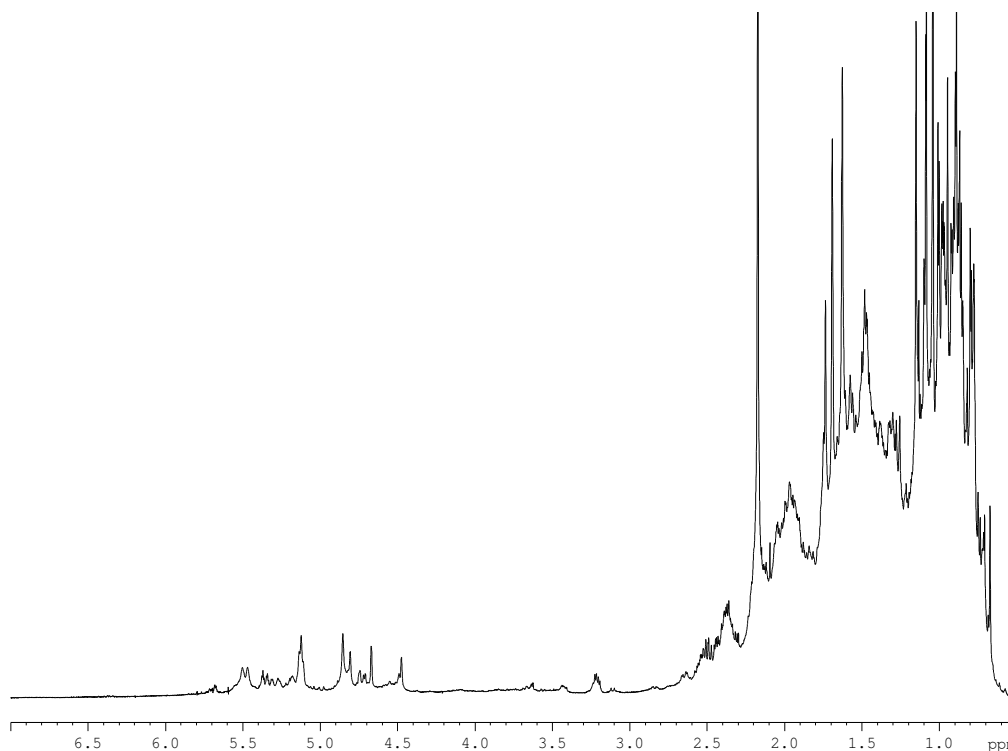
Σχήμα 4.33: 1, 4 πολύ - β-μυρκένιο πολυμερισμένο μονοτερπένιο, συστατικό τριτερπενοειδών ρητινών

4.2.2.2 Δάμμαρη

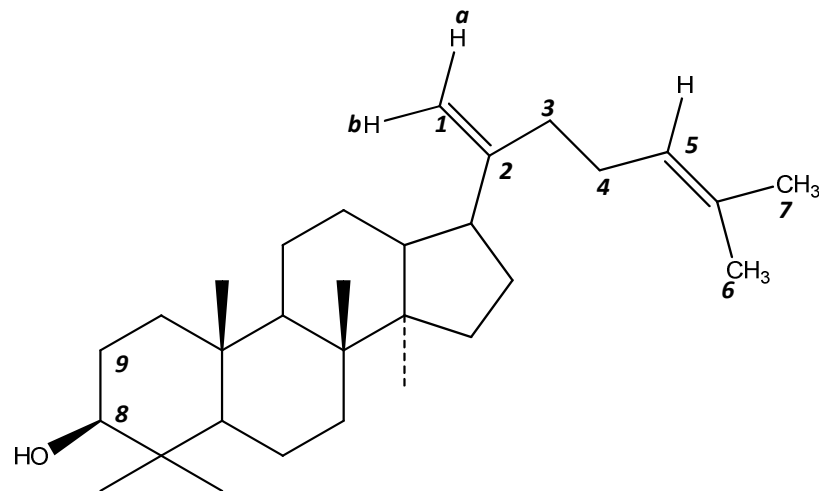
Ένας επίσης σημαντικός εκπρόσωπος των τριτερπενοειδών ρητινών, που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πίνακες ζωγραφική, είναι η δάμμαρη. Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα NMR (Σχήμα 4.34 - Σχήμα 4.37) της ρητίνης δάμμαρη.

Ένα από τα κύρια τριτερπενικά συστατικά της δάμμαρης είναι τα παράγωγα της δαμμαραδιενόλης (Σχήμα 4.35). Στο Σχήμα 4.36, όπου φαίνεται το φάσμα $^1\text{H}-^1\text{H}$ gCOSY 2D NMR, έχουν εντοπιστεί κάποιες χαρακτηριστικές κορυφές της δαμμαραδιενόλης. Επίσης στο Σχήμα 4.37 παρουσιάζεται το φάσμα $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ gHMQC 2D NMR, όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των βινυλικών πρωτονίων της δαμμαραδιενόλης με τους άνθρακες τους.

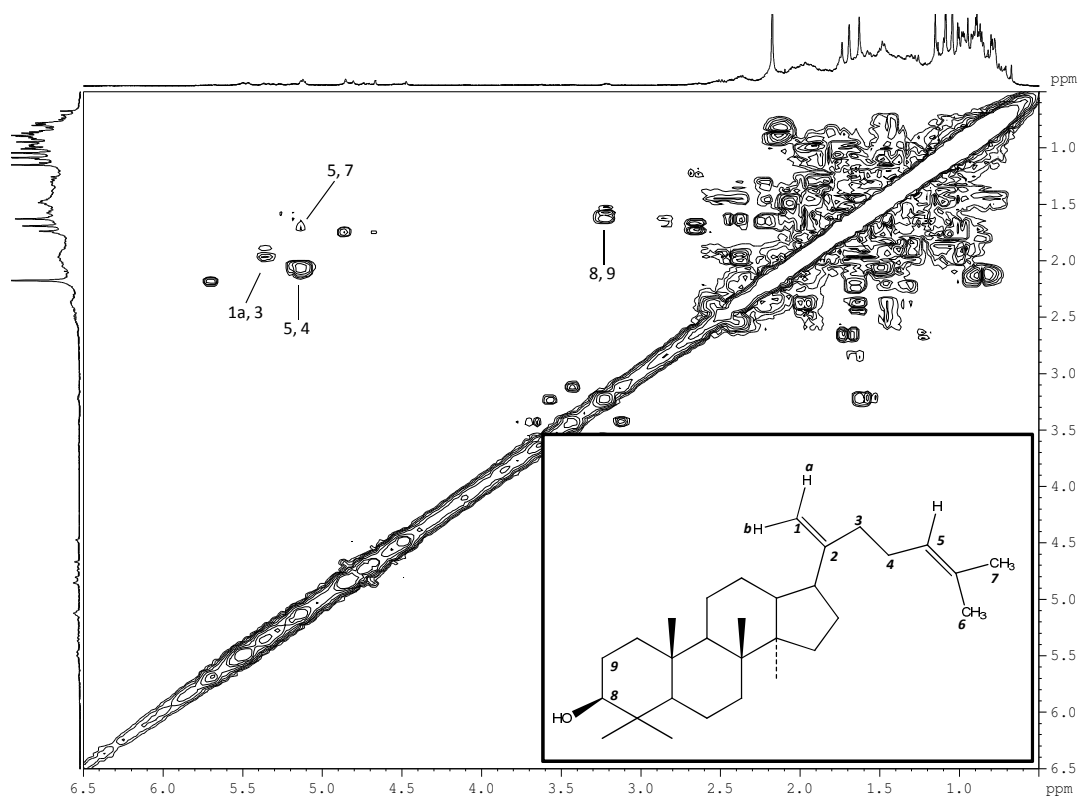
Όπως και στην περίπτωση της μαστίχης, η τριτερπενική δομή των ενώσεων του δαμμαρανίου δεν δικαιολογεί την παρουσία την παρουσία του μεγάλου αριθμού διπλών δεσμών, οπότε συμπεραίνουμε πως είναι πιθανόν να προέρχονται από προϊόντα πολυμερισμού μονοτερπενικών ενώσεων, όπως για παράδειγμα το 1, 4 πολύ - β-μυρκένιο,



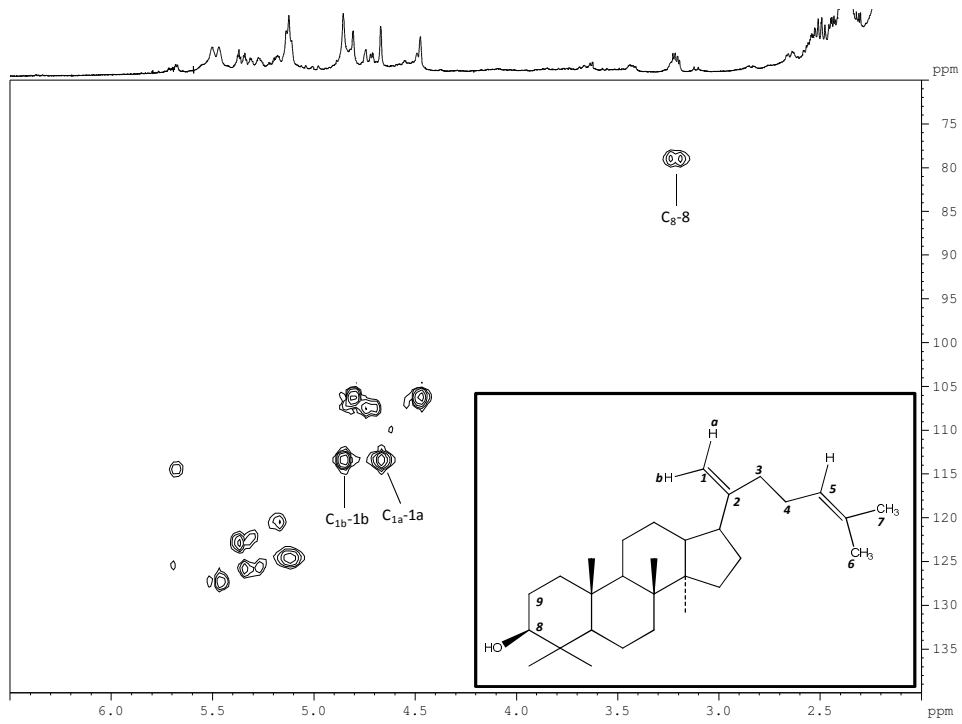
Σχήμα 4.34: Φάσμα ^1H NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)



Σχήμα 4.35: Δαμμαραδιενόλη, ένα από τα κύρια τριτερπενικά συστατικά της ρητίνης δάμμαρη



Σχήμα 4.36: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3)

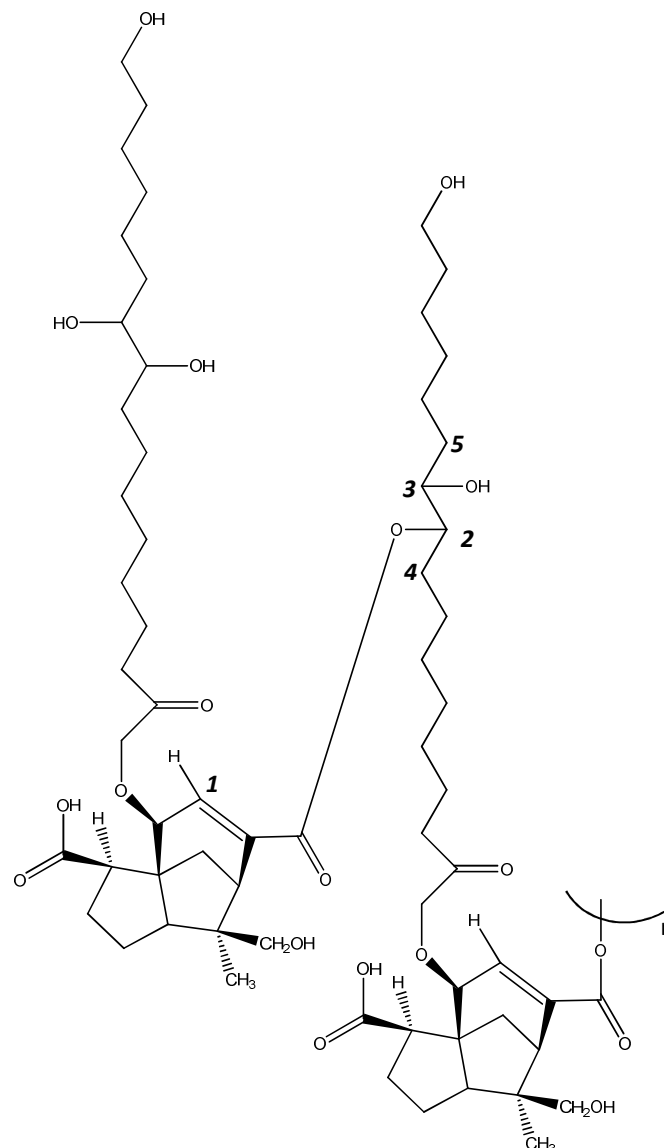


Σχήμα 4.37: Φάσμα $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ gHMBC 2D NMR της τριτερπενικής ρητίνης δάμμαρη σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3), όπου διακρίνονται οι συζεύξεις των βινυλικών πρωτονίων με τους άνθρακες τους

4.2.3 Σεσκιτερπενοειδείς ρητίνες

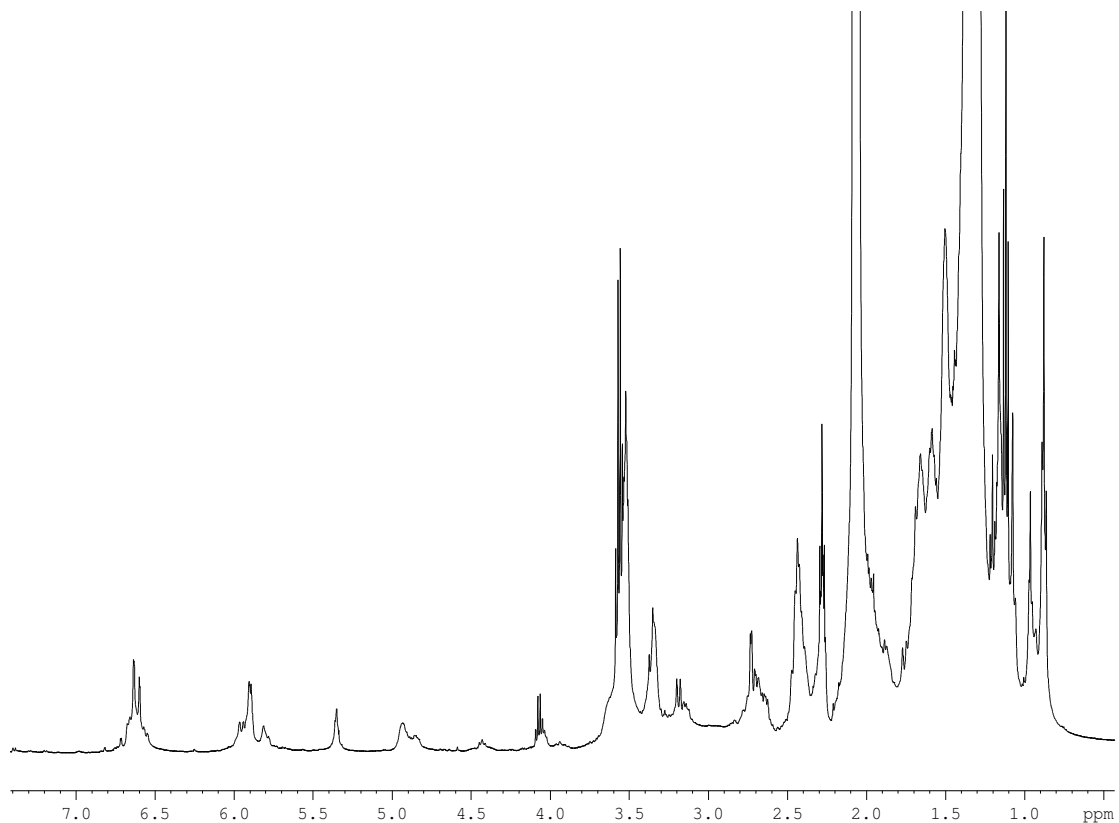
4.2.3.1 Σέλακ (γομμαλάκα)

Όπως περιγράφεται και στο δεύτερο κεφάλαιο, η ρητίνη σέλακ είναι ένα μίγμα πολυεστέρων χαμηλού μοριακού βάρους, οι οποίοι προκύπτουν από εστεροποίηση αλειφατικών ύδροξυ οξέων, όπως το 9,10,16 τριυδροξυ-παλμιτικό οξύ και το 6 υδροξυ μυριστικό οξύ με κυκλικά σεσκιτερπενικά οξέα (Σχήμα 2.17). Στο Σχήμα 4.38 παρουσιάζεται ένας πολυεστέρας του 9,10,16 τριυδροξυ-παλμιτικού οξέος με το σελλολικό οξύ, ένα από τα κύρια συστατικά της ρητίνης σέλακ.

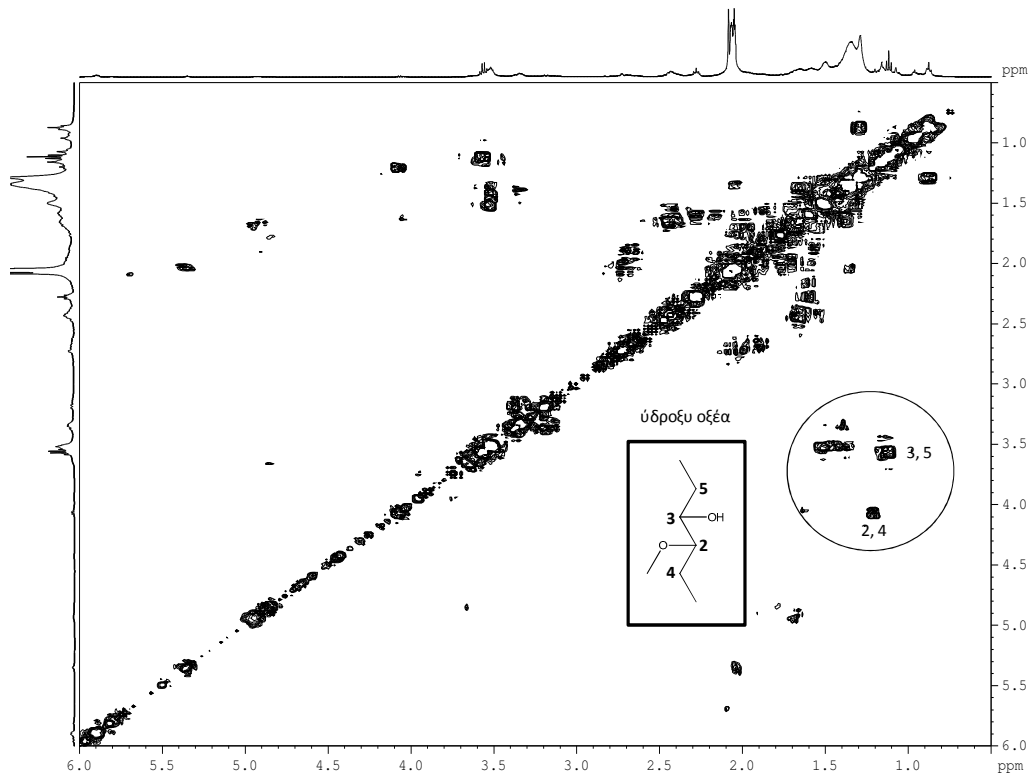


Σχήμα 4.38: Πολυεστέρας του 9,10,16 τριυδροξυ-παλμιτικού οξέος με το σελλολικό οξύ, συστατικό της ρητίνης σέλακ

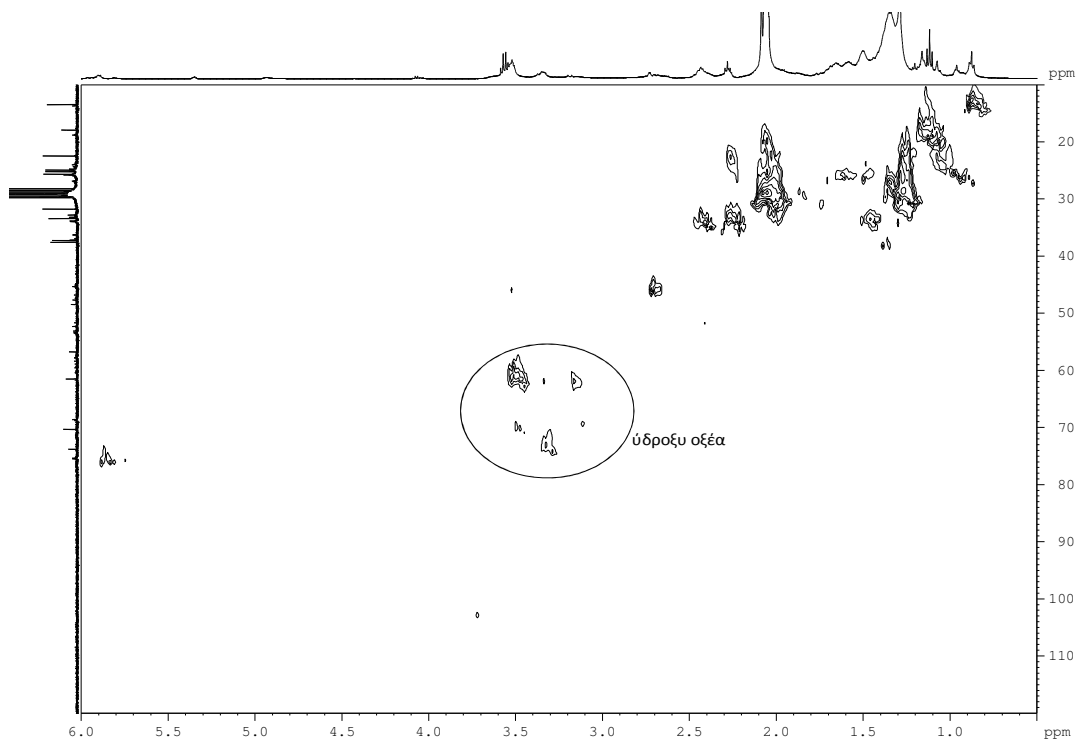
Στο Σχήμα 4.39 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR, της ρητίνης σέλακ. Ήδη από το φάσμα πρωτονίου, μπορούμε να δούμε χαρακτηριστικές κορυφές ύδροξυ οξέων, στα 3.5 και 4 ppm. Ειδικότερα, παίρνουμε περισσότερες πληροφορίες από το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR, όπου διακρίνονται οι κορυφές σύζευξης των πρωτονίων 2 και 3 των ύδροξυ οξέων και των γειτονικών του μεθυλενικών πρωτονίων. Τέλος στο Σχήμα 4.41 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR, όπου φαίνονται όχι μόνο οι συσχετισμοί των πρωτονίων των ύδροξυ-οξέων με τους άνθρακες τους, αλλά και το πρωτόνιο 1, το οποίο δεν είναι εμφανές στο φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR, καθώς δεν παρουσιάζει σύζευξη με άλλο πρωτόνιο.



Σχήμα 4.39: Φάσμα ^1H NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Σχήμα 4.40: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Σχήμα 4.41: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR της σεσκιτερπενικής ρητίνης σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Β. ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης με τη φασματοσκοπία NMR μιας σειράς αρχαιολογικών δειγμάτων τοιχογραφιών από την Πομπηία, καθώς και δειγμάτων από βερνίκια πιο σύγχρονων έργων τέχνης. Ο σκοπός αυτών των πειραμάτων είναι να χρησιμοποιήσουμε τις φασματοσκοπικές παραμέτρους που μελετήθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο για τα δείγματα αναφοράς κηρών και τερπενοειδών ρητινών ώστε να καταστεί δυνατή η ταυτοποίηση των οργανικών υλικών στα άγνωστα δείγματα που έχουμε στη διάθεσή μας.

Όπως συζητήθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, τα οργανικά υλικά αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος παρουσιάζουν μεγάλη πολυπλοκότητα και η ταυτοποίησή τους σε αρχαιολογικά/ιστορικά δείγματα αποτελεί μια δύσκολη και απαιτητική διαδικασία. Τα βερνίκια ειδικότερα είναι σύνθετα μίγματα οργανικών υλικών, τα οποία εκτός από τερπενοειδείς ρητίνες μπορεί να περιέχουν μια πληθώρα υλικών όπως ξηραίνόμενα έλαια, κεριά, αυγοτέμπερα, κλπ. Ο προσδιορισμός της ρητίνης που χρησιμοποιήθηκε σε ένα δείγμα βερνικιού από έργο τέχνης δυσχεραίνεται επίσης από

την προχωρημένη κατάσταση γήρανσης του, η οποία μπορεί να φτάνει αρκετές δεκάδες ή εκατοντάδες χρόνια. Η μεγάλη σημασία των επιπτώσεων της γήρανσης στη σύσταση των ρητινών έχει φέρει μια σειρά από μελέτες με θέμα τις αλλοιώσεις που συμβαίνουν στα μόρια-συστατικά των ρητινών, όπως η οξείδωση, η υδρόλυση, η αποικοδόμηση, ο πολυμερισμός, κλπ. (160)-(168).

5.1 Τοιχογραφίες από την Οικία του Μάρκου Λουκρήτιου, Πομπηία

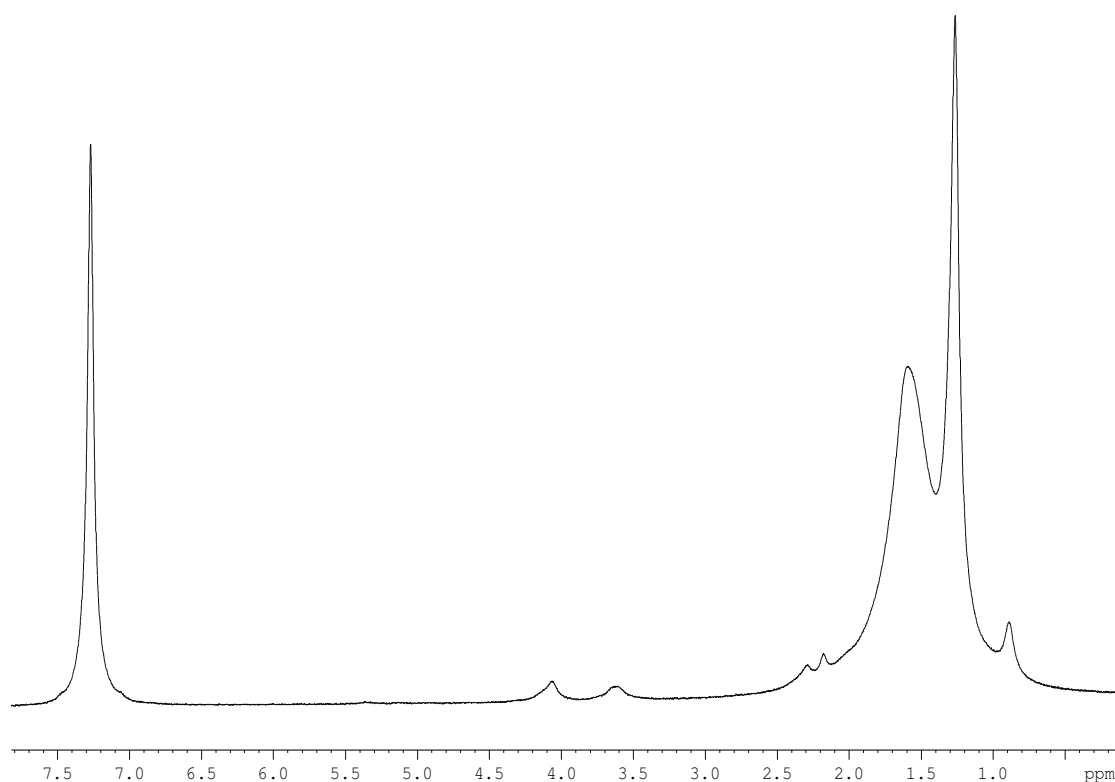
Μέσω της συνεργασίας μας με τη Dr Ulla Knutinen, (Helsinki Metropolia University of Applied Sciences), είχαμε την ευκαιρία να αναλύσουμε δείγματα τοιχογραφιών από την Πομπηία, αντιπροσωπευτικά του Δεύτερου Διακοσμητικού Ρυθμού, 80-15 π.Χ., και του Τέταρτου Διακοσμητικού Ρυθμού, 50-79 μΧ. (169).

Τα δείγματα Τέταρτου Ρυθμού (Πίνακας 5.1) λήφθηκαν από τους τοίχους της οικίας του Μάρκου Λουκρήτιου και χρονολογούνται από το 79 μ.Χ., τη χρονιά της δεύτερης έκρηξης του Βεζούβιου. Η τέφρα του ηφαιστείου, καθώς κάλυψε τους τοίχους, διατήρησε τις τοιχογραφίες σε καλή κατάσταση. Η Πομπηία ανακαλύφθηκε το 1748, και οι πρώτες ανασκαφές στην οικία του Μάρκου Λουκρήτιου έγιναν το 1850.

Πίνακας 5.1: Δείγματα τοιχογραφιών Τέταρτου Ρυθμού

Δείγμα 4 ^ο Ρυθμού	Περιγραφή
1/1	μπλε χρωστική
1/14	μπλε χρωστική
8/10	γκριζωπό κηρώδες δείγμα
9/4	γκριζωπό κηρώδες δείγμα
16/53	γκριζωπό κηρώδες δείγμα
16/55	γκριζωπό κηρώδες δείγμα

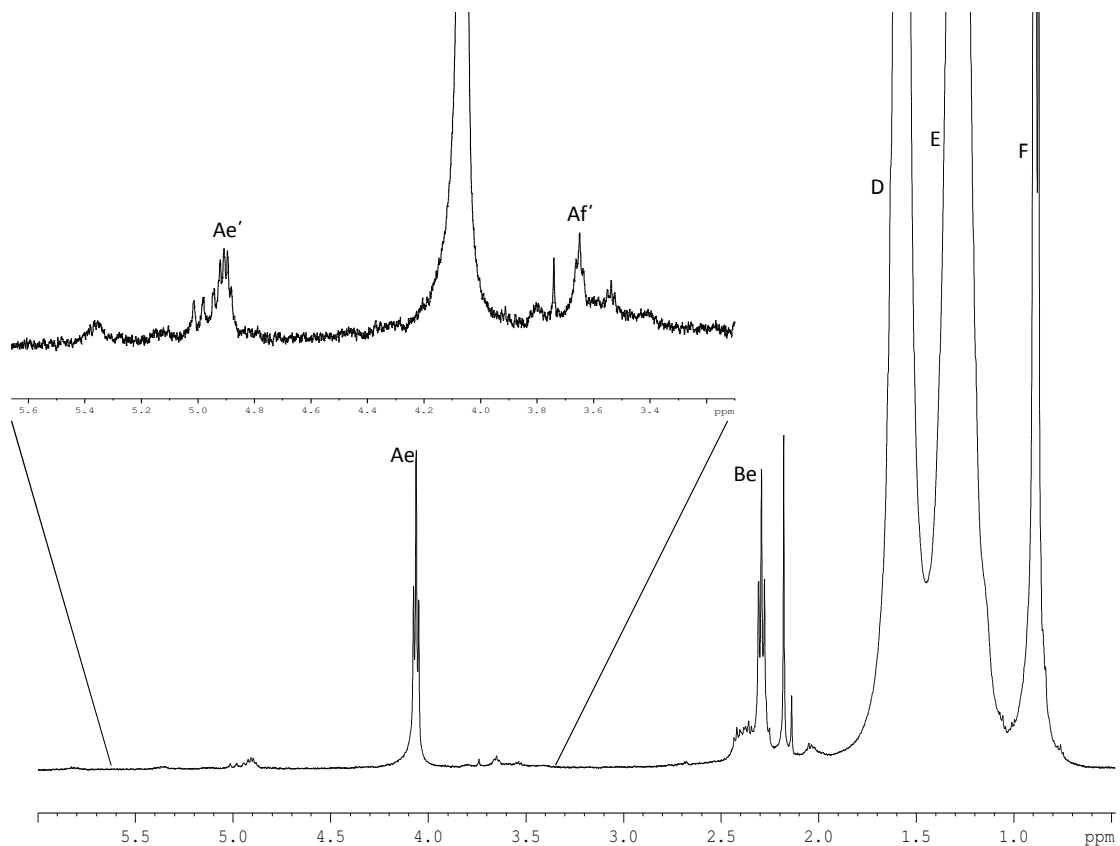
Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν με μονοδιάστατα ^1H NMR και δισδιάστατα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR πειράματα, τα αποτελέσματα των οποίων παρουσιάζονται παρακάτω. Οι πρώτες παρατηρήσεις που έχουν να γίνουν για τα δείγματα 1/1 και 1/14 είναι πως τα ^1H NMR φάσματά τους (Σχήμα 5.1) παρουσιάζει φαρδιές κορυφές, οι οποίες δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικές για τον προσδιορισμό μορίων. Γνωρίζοντας πως τα δείγματα περιέχουν μπλε χρωστική ουσία, αλλά και από το σχήμα και τη φύση των κορυφών, συμπεραίνουμε πως στη χρωστική που περιέχουν τα δείγματα υπάρχει παραμαγνητικό άτομο. Τα παραμαγνητικά άτομα περιέχουν μονήρες ηλεκτρόνιο, το οποίο παρουσιάζει πολύ ισχυρότερη μαγνήτιση από τους πυρήνες πρωτονίων που εξετάζουμε, με αποτέλεσμα η απομαγνήτιση/αποδιέγερση να συμβαίνει πολύ γρήγορα στο πείραμα, γεγονός που οδηγεί στην εμφάνιση φαρδιών κορυφών. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.1 οι κορυφές των φασμάτων που ελήφθησαν δεν μπορούν να είναι διαγνωστικές κάποιου μορίου.



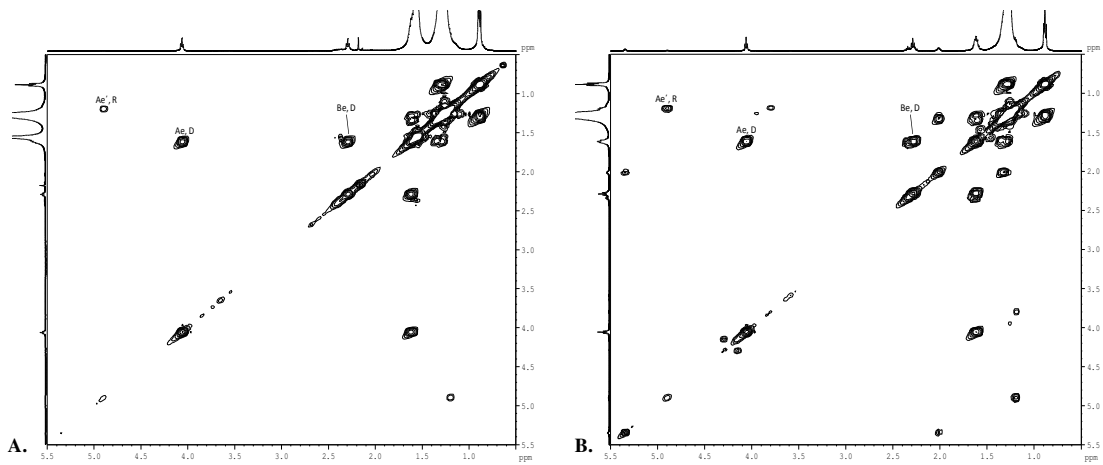
Σχήμα 5.1: Φάσμα ^1H NMR του δείγματος 1/14 του 4⁰⁰ Ρυθμού

Τα υπόλοιπα δείγματα 4^{ου} Ρυθμού φαίνεται να έχουν την ίδια σύσταση, καθώς φαίνεται να περιέχουν κερι μέλισσας. Ένα χαρακτηριστικό φάσμα ¹H NMR των δειγμάτων αυτών παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.2, όπου φαίνεται η ανάθεση κορυφών κηρού μέλισσας, καθώς και ένα φάσμα ¹H-¹H gCOSY 2D NMR, μαζί με φάσμα ¹H-¹H gCOSY 2D NMR από κερι μέλισσας για σύγκριση (Σχήμα 5.3). Και στα δύο φάσματα φαίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές εστέρα κηρού, αλλά και η χαρακτηριστική κορυφή των ω-1 ύδροξυ εστέρων του κηρού μέλισσας στα Ae'/R στα 4.8/1.19 ppm., το οποίο μας επιτρέπει να συμπεράνουμε πως το δείγμα περιέχει κηρό μέλισσας.

Η ερώτηση που προκύπτει είναι αν το κερι χρησιμοποιήθηκε από τον καλλιτέχνη ή τους πρώτους συντηρητές από τις ανασκαφές του 1850 που πιθανόν κάλυψαν τις τοιχογραφίες με επίστρωση κηρού ως προστατευτικό υλικό. Στη συγκεκριμένη περίπτωση γνωρίζουμε από τους ανασκαφείς πως το κερι μέλισσας είχε χρησιμοποιηθεί κατά την πρώτη ανασκαφή προκειμένου να προστατευτούν οι τοιχογραφίες από περιβαλλοντολογικές αλλοιώσεις.



Σχήμα 5.2: ¹H NMR δείγματος 8/10 του 4^{ου} Ρυθμού



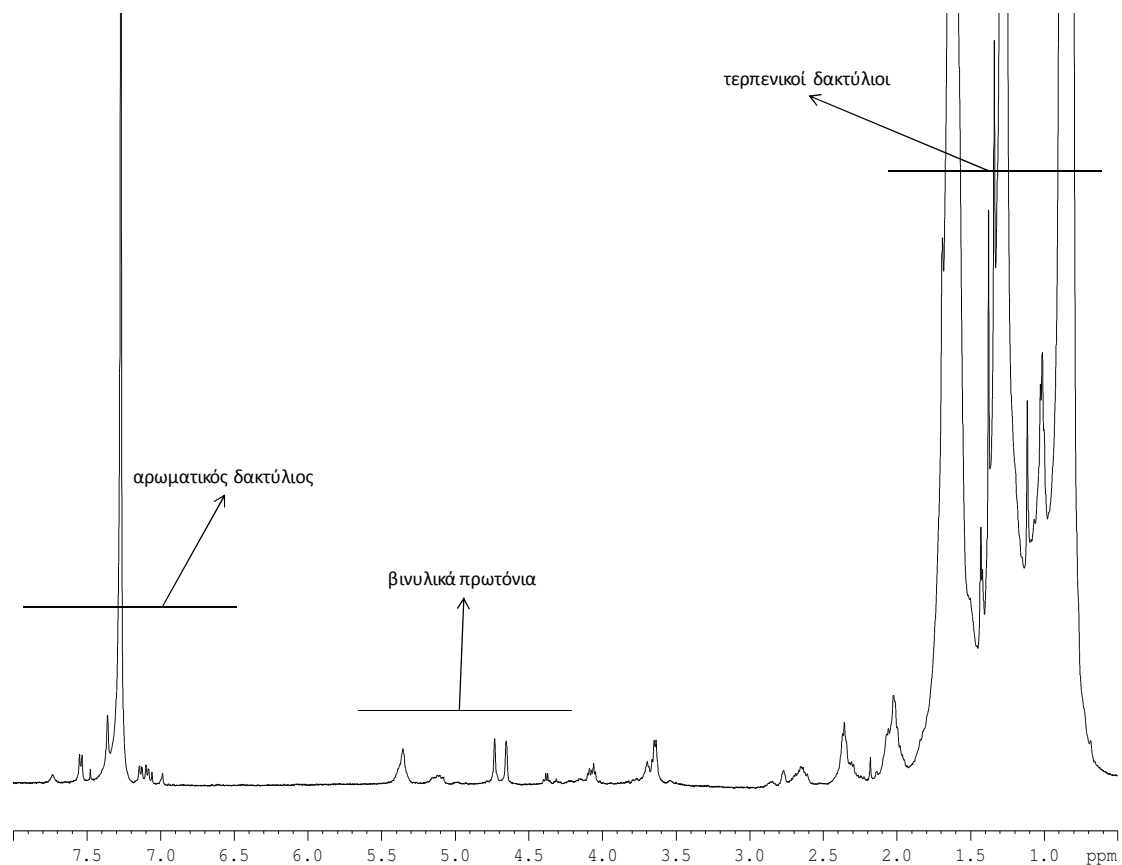
Σχήμα 5.3: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR A. του δείγματος 8/10 του 4^{ου} Ρυθμού και B. δείγματος κηρού μέλισσας.

Η δεύτερη σειρά δειγμάτων (Πίνακας 5.2) περιλαμβάνει θραύσματα τοιχογραφιών του Δεύτερου Διακοσμητικού Ρυθμού, τα οποία βρέθηκαν σε παλαιότερα στρώματα της ανασκαφής, και χρονολογούνται από το 80-20 π.Χ.

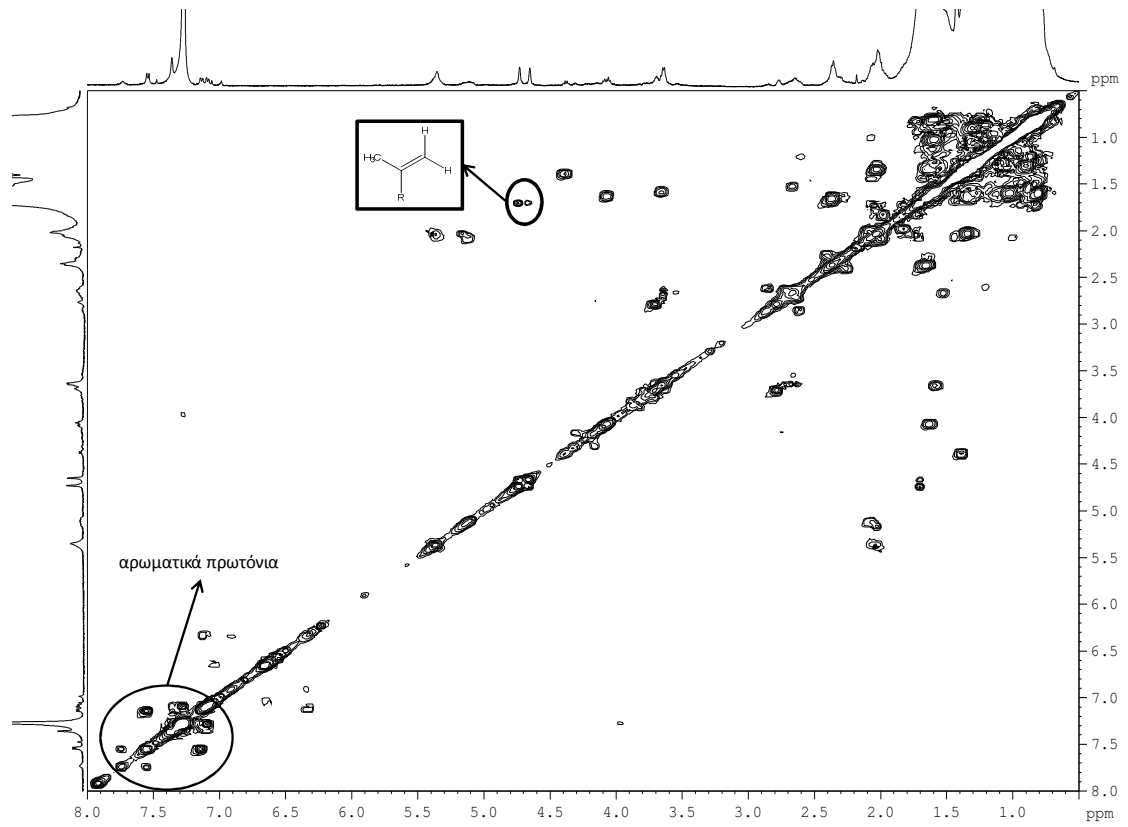
Πίνακας 5.2: Δείγματα τοιχογραφιών Δεύτερου Ρυθμού

Δείγμα 2 ^{ου} Ρυθμού	Περιγραφή
Yellow A	κίτρινη χρωστική με οργανικό επικάλυμμα
Red A	κόκκινη χρωστική με οργανικό επικάλυμμα
Green A	πράσινη χρωστική με οργανικό επικάλυμμα
3FF	κίτρινη χρωστική με οργανικό επικάλυμμα

Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν με μονοδιάστατα και δισδιάστατα πειράματα NMR και τα αποτελέσματα τους παρουσιάζονται παρακάτω. Όπως φαίνεται στα Σχήμα 5.4 και Σχήμα 5.5, όπου παρουσιάζονται τα φάσματα ^1H NMR και ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR αντιστοίχως, το οργανικό υλικό που περιέχεται στα δείγματά μας δεν είναι κανένα από αυτά που μελετήσαμε. Φαίνεται να είναι κάποιο φυσικό προϊόν, το οποίο περιέχει αρωματικό δακτύλιο, αλειφατικό δακτύλιο, καθώς και ομάδες μέθοξυ και ύδροξυ. Για την αναγνώριση του υλικού είναι αναγκαία περισσότερη αρχαιολογική πληροφορία σχετικά με τα υλικά που χρησιμοποιούσαν οι καλλιτέχνες εκείνης της περιόδου, καθώς είναι πιθανό να πρόκειται περί συνδετικού υλικού χρωστικών ουσιών.



Σχήμα 5.4: ^1H NMR δείγματος Green A 2⁰⁰ Ρυθμού



Σχήμα 5.5: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος Green A 2⁰⁰ Ρυθμού

5.2 Έργα ζωγραφικής

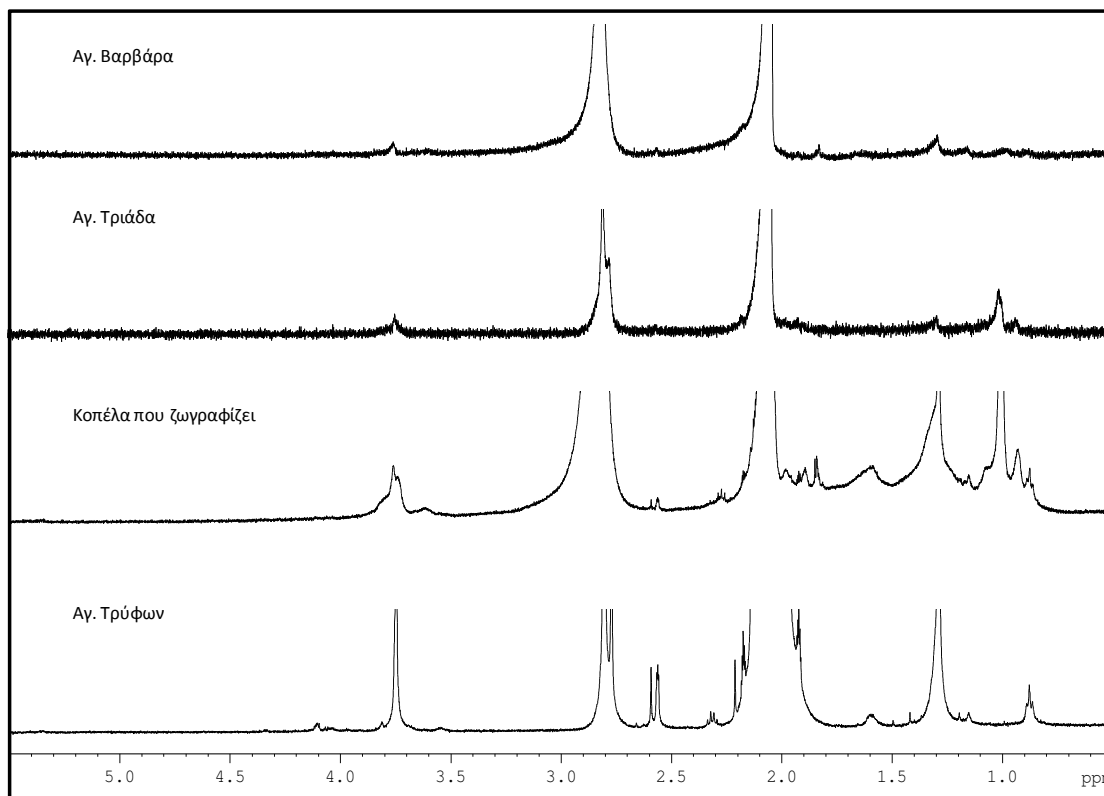
5.2.1 Τέσσερα έργα άγνωστων καλλιτεχνών

Μέσω μιας συνεχούς συνεργασίας με το Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ, ΙΤΕ, και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Δημήτρη Άγγλο του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, είχαμε στη διάθεσή μας για ανάλυση δείγματα στρώματος βερνικιού από μια σειρά αγιογραφιών και έργων ζωγραφικής, που είχαν παραχωρηθεί στο Ινστιτούτο για μελέτη.

Πίνακας 5.3: Χαρακτηριστικά έργων ζωγραφικής προς ανάλυση

Πίνακας	Τεχνική	Χρονολογία	Κατάσταση έργου
Κοπέλα που ζωγραφίζει	Λάδι σε καμβά	Άγνωστη	Το ζωγραφικό στρώμα παρουσιάζει απώλειες ζωγραφικής επιφάνειας σε μεγάλη έκταση. Το αυθεντικό βερνίκι έχει αφαιρεθεί και έχει τοποθετηθεί νέο.
Αγ. Τρύφων	Αυγοτέμπερα σε ξύλο	Άγνωστη	Το ζωγραφικό στρώμα είναι ιδιαίτερα κατεστραμμένο με μεγάλες απώλειες στα κόκκινα χρώματα και στα σαρκώματα, όχι τόσο μεγάλες στον πράσινο μανδύα και στο πράσινο φόντο. Το αυθεντικό βερνίκι έχει αφαιρεθεί και έχει τοποθετηθεί νέο.
Αγ. Τριάδα	Αυγοτέμπερα πάνω σε φύλο από ασήμι, Ρωσικής τεχνοτροπίας	Αρχές 18ου αιώνα	Η ζωγραφική επιφάνεια είναι σε αρκετά καλή κατάσταση. Το αυθεντικό βερνίκι έχει αφαιρεθεί και έχει τοποθετηθεί νέο. Στην αριστερή πλευρά έχει τοποθετηθεί ένα στρώμα νέου βερνικιού και από πάνω ένα άλλο στρώμα προσομοίωσης παλαιού.
Αγ. Βαρβάρα	Λάδι, σε ξύλινο φορέα	Αρχές 20ου αιώνα	Η απορρόφηση υγρασίας από το φορέα έχει αποδυναμώσει τη συνοχή της επιφάνειας, προκαλώντας αποκολλήσεις ζωγραφικού στρώματος. Το βερνίκι είναι ανομοιόμορφα τοποθετημένο και είναι οξειδωμένο.

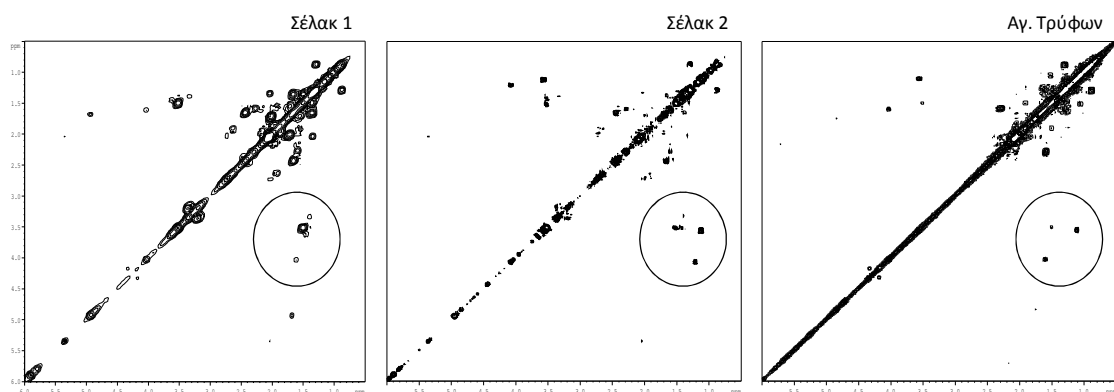
Στο Σχήμα 5.6 παρουσιάζονται τα μονοδιάστατα φάσματα ^1H NMR δειγμάτων βερνικιών από τα έργα ζωγραφικής. Τα φάσματα αυτά παρουσιάζουν πολύ ευρείες κορυφές, γεγονός που δυσκολεύει ιδιαίτερα την ανάθεση των κορυφών. Κατά τη διάρκεια της γήρανσης των βερνικιών, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι ρητίνες αποικοδομούνται και/ή πολυμερίζονται σε προϊόντα μεγάλου μοριακού βάρους και σύνθετης δομής. Κατά αυτόν τον τρόπο, στα φάσματα δεν παρατηρούνται κορυφές στην περιοχή πάνω από δ 4.0 ppm, όπου θα περιμέναμε να εμφανίσουν κορυφή οι διπλοί δεσμοί. Η ανίχνευση της ρητίνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν εφικτή μόνο σε δύο από τους παραπάνω πίνακες. Για τους υπόλοιπους η ποσότητα του δείγματος δεν ήταν αρκετή ώστε να είναι δυνατή η λήψη δισδιάστατων φασμάτων 2D NMR.



Σχήμα 5.6: Φάσματα ^1H NMR δειγμάτων βερνικιών από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» και τις εικόνες «Αγία Βαρβάρα», «Άγιος Τρύφων» και «Αγία Τριάδα»

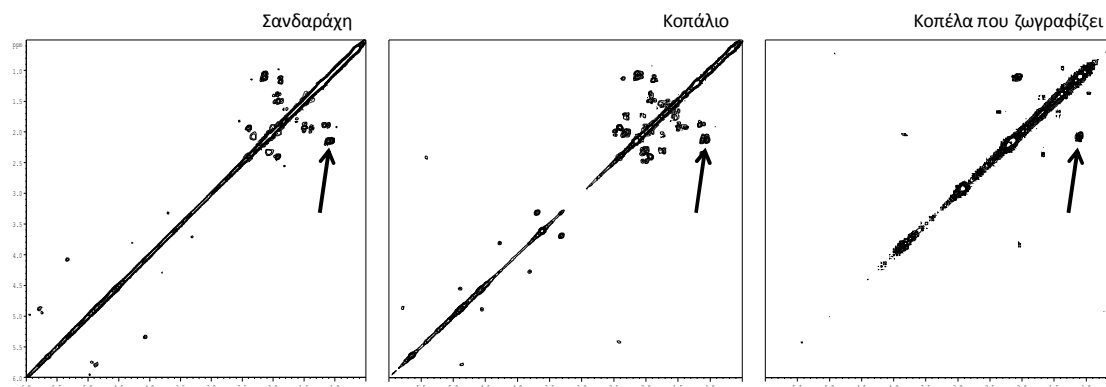
Στο Σχήμα 5.7 συγκρίνονται τα φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από την εικόνα «Άγιος Τρύφωνας» με αυτά δύο διαφορετικών τύπων ρητίνης σέλακ.

Στο φάσμα του «Αγίου Τρύφωνα» παρατηρούνται μια σειρά από κορυφές εκτός διαγωνίου στην περιοχή δ 1-1.5/4-4.2 ppm, οι οποίες ανήκουν στους ύδροξυ εστέρες της ρητίνης σέλακ και περιγράφηκαν πιο λεπτομερώς σε προηγούμενη ενότητα. Οι κορυφές αυτές δεν εμφανίζονται σε καμία άλλη ρητίνη από όσες μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, και υποδεικνύουν ότι το βερνίκι που χρησιμοποιήθηκε για την προστασία της συγκεκριμένης εικόνας περιείχε κατά πάσα πιθανότητα ρητίνη τύπου σέλακ.



Σχήμα 5.7: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από την εικόνα «Άγιος Τρύφωνας» και δύο διαφορετικών τύπων ρητίνης σέλακ

Στο Σχήμα 5.8 συγκρίνονται τα φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» με αυτά δύο διτερπενικών ρητινών, της σανδαράχης και του κοπάλιου.



Σχήμα 5.8: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» και δύο διτερπενικών ρητινών, της σανδαράχης και του κοπάλιου

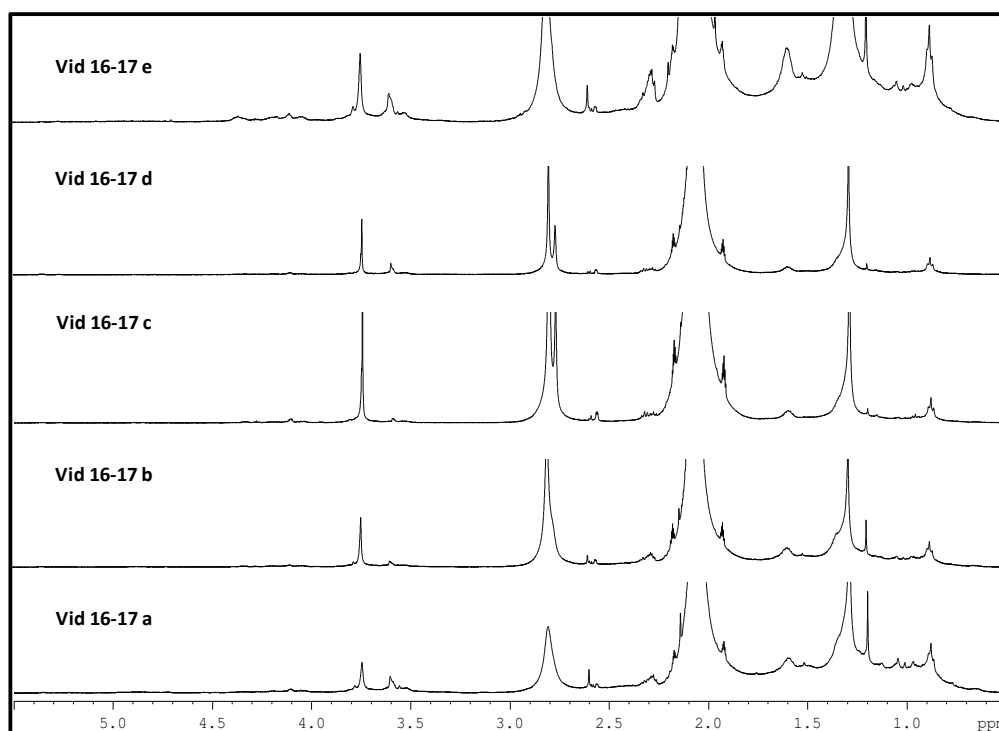
Το φάσμα ^1H NMR της «Κοπέλας που ζωγραφίζει» (Σχήμα 5.6) παρουσιάζει αρκετές κορυφές που αποδίδονται σε λιπαρά οξέα λιπιδίων, τα οποία έχουν μελετηθεί από το εργαστήριο μας λεπτομερώς (97) υποδεικνύοντας την παρουσία στο βερνίκι κάποιου ξηραίνόμενου ελαίου. Στο δισδιάστατο φάσμα όμως της «Κοπέλας» εμφανίζεται μια κορυφή σε δ 1.05/2.0 ppm, η οποία υπάρχει επίσης στα φάσματα των διτερπενοειδών ρητινών κοπάλιο και σανδαράχη σε δ 1.07/2.1 ppm. Επομένως μπορεί να συναχθεί ότι μια διτερπενοειδής ρητίνη (κοπάλιο ή σανδαράχη) πιθανώς έχει προστεθεί στο βερνίκι που χρησιμοποιήθηκε στον πίνακα «κοπέλα». Η μόνη άλλη ισχυρή κορυφή στο δισδιάστατο φάσμα NMR της «Κοπέλας» είναι αυτή σε δ 3.7/2.0, η οποία συνδέει πρωτόνια δίπλα σε ομάδα $-\text{OH}$ ή $-\text{OR}$ με αλειφατικά πρωτόνια. Παρόμοιες κορυφές στη βιβλιογραφία έχουν παρατηρηθεί σε δείγματα εξαιρετικά γηρασμένων ξηραίνόμενων ελαίων και αποδίδονται στην παρουσία υδροξυ οξέων, τα οποία προέρχονται από την οξείδωση λιπαρών οξέων (97). Αξίζει να αναφερθεί η ομοιότητα που παρατηρείται στο Σχήμα 5.6 μεταξύ των φασμάτων βερνικιών από τον πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» και την εικόνα «Αγία Τριάδα». Η ομοιότητα αυτή πιθανώς να υποδεικνύει την χρήση παρόμοιων βερνικιών.

5.2.2 «Η βάπτιση του Χριστού», Δομήνικος Θεοτοκόπουλος (1568-1570 μ.Χ.)

Ο πίνακας «Η Βάπτιση του Χριστού» του Δομήνικου Θεοτοκόπουλου αγοράστηκε από το Δήμο Ηρακλείου το 2004 και βρίσκεται στο Ιστορικό Μουσείο Κρήτης στο Ηράκλειο. Η συντήρηση του πίνακα έγινε από τον Στέργιο Στασινόπουλο στο εργαστήριο συντήρησης του Μουσείου Μπενάκη. Η δειγματοληψία των βερνικών από το έργο έγινε κατά τη συντήρησή του και τα δείγματα παραχωρήθηκαν στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ για μελέτη.

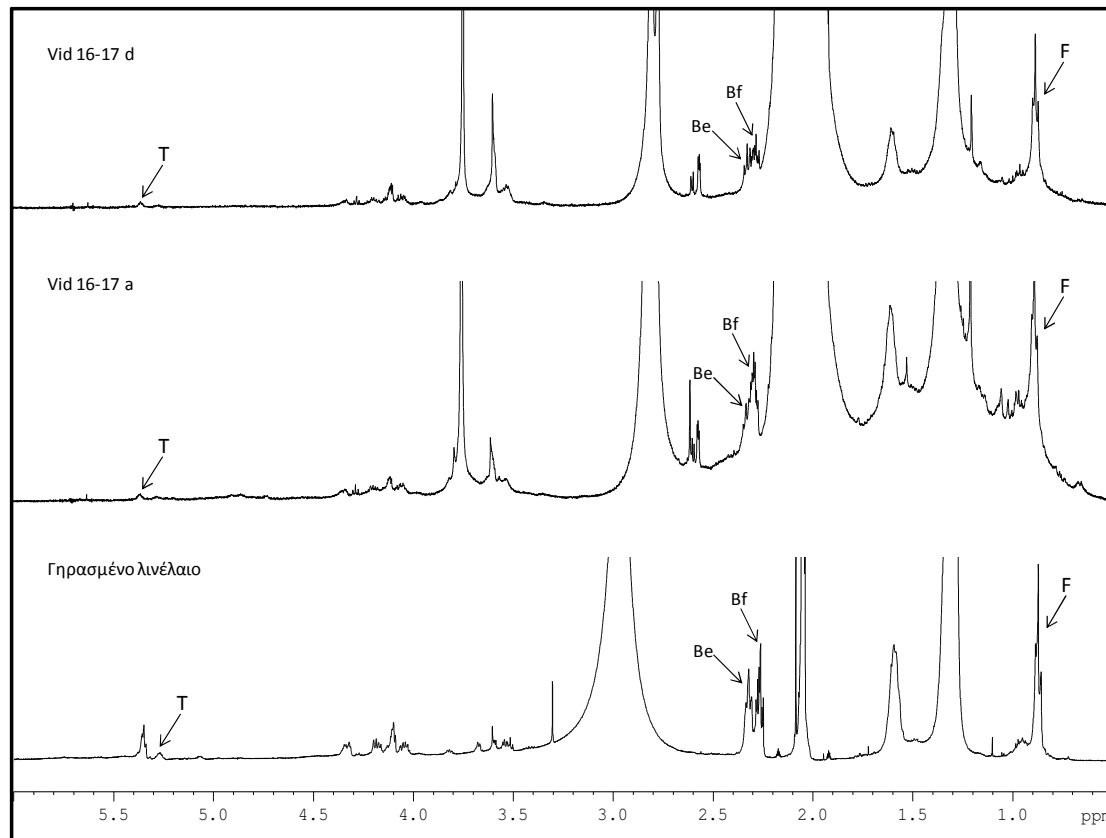
Στο έργο απεικονίζεται η Βάπτιση του Χριστού με πρωταγωνιστικές μορφές τον Ιησού και τον Ιωάννη τον Πρόδρομο που συνοδεύονται από τρεις φτερωτούς αγγέλους μέσα σε φυσικό περιβάλλον που αναπαριστά το τοπίο του ποταμού Ιορδάνη. Το έργο είναι ανυπόγραφο, μπορεί όμως, βάσει τεχνοτροπικών κριτηρίων, να αποδοθεί με βεβαιότητα στον Δομήνικο Θεοτοκόπουλο και να ενταχθεί στα έργα της προχωρημένης βενετικής παραγωγής του (170).

Αναλύθηκαν 5 δείγματα βερνικιού με πειράματα ^1H NMR και ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR. Τα μονοδιάστατα φάσματα ^1H NMR όλων των δειγμάτων παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.9.



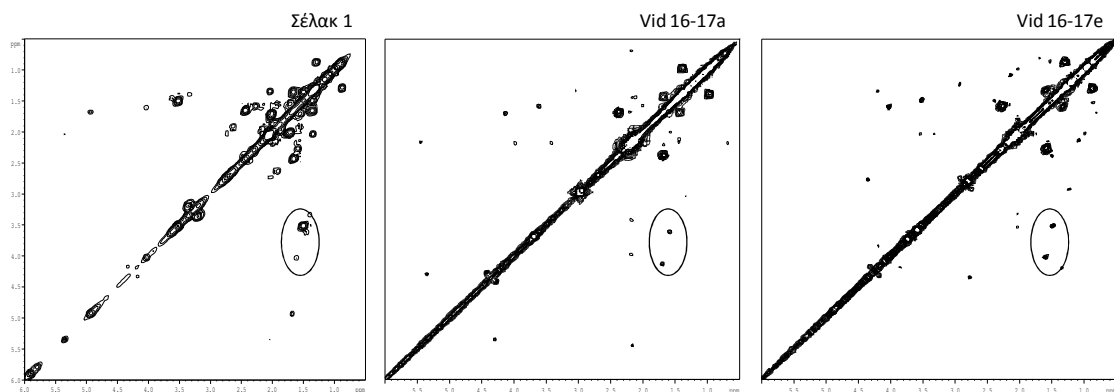
Σχήμα 5.9: Φάσματα ^1H NMR των δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού»

Όλα τα δείγματα παρουσιάζουν χαρακτηριστικές κορυφές λιπαρών οξέων, ενώ δύο από αυτά φαίνεται να περιέχουν κάποια τερπενοειδή ρητίνη, η οποία δεν είναι όμως δυνατόν να ταυτοποιηθεί βασισμένοι αποκλειστικά στα μονοδιάστατα φάσματα ^1H NMR. Στο Σχήμα 5.10 παρουσιάζονται τα φάσματα ^1H NMR από δύο δείγματα βερνικιού, από τα οποία το ένα (vid 16-17a) περιέχει ρητίνη, ενώ το άλλο (vid 16-17d) δεν περιέχει ρητίνη, καθώς και γηρασμένου λινέλαιου για σύγκριση. Στο σχήμα αναγράφονται οι κύριες κορυφές των λιπαρών οξέων.



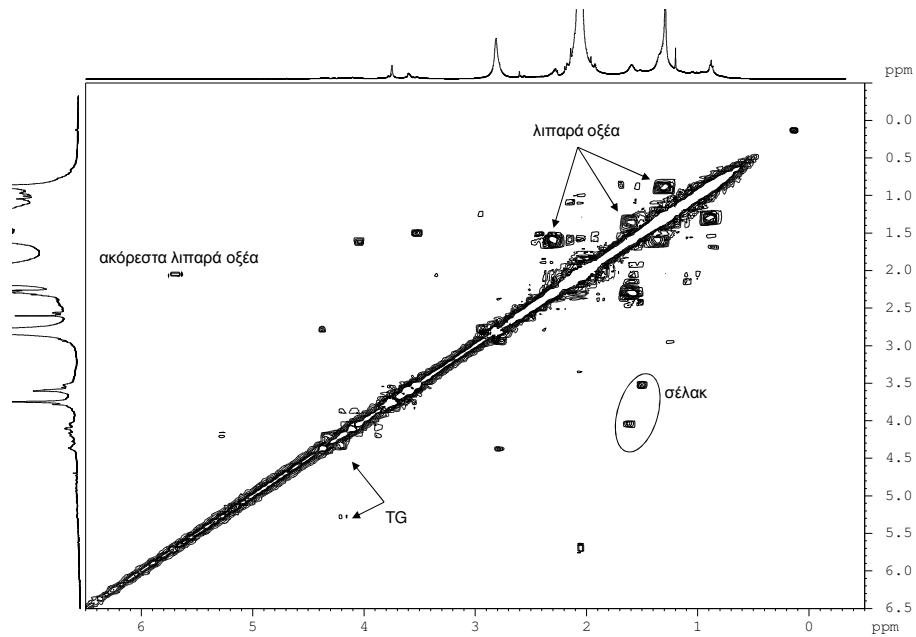
Σχήμα 5.10: Φάσματα ^1H NMR δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού» καθώς και γηρασμένου λινέλαιου

Στο Σχήμα 5.11 φαίνονται τα φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR των δειγμάτων που περιέχουν ρητίνη, καθώς και το φάσμα της ρητίνης σέλακ για σύγκριση. Στα φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR των δειγμάτων εμφανίζονται κορυφές στην περιοχή δ 1-1.5/4-4.2 ppm, οι οποίες ανήκουν στους ύδροξυ εστέρες της ρητίνης σέλακ που προαναφέραμε.

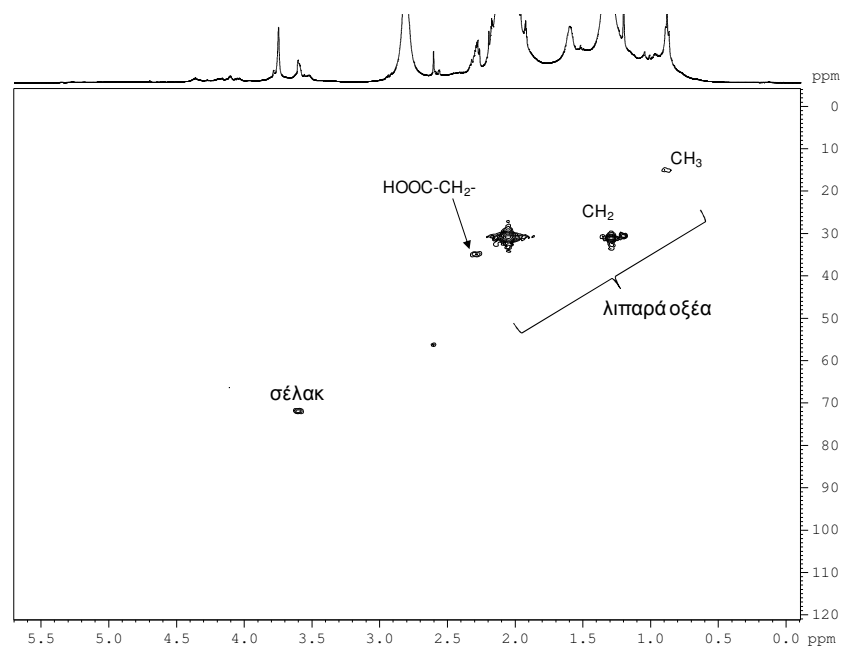


Σχήμα 5.11: Φάσματα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δύο δειγμάτων βερνικιού από τον πίνακα «Η Βάπτιση του Χριστού» και της ρητίνης σέλακ

Επίσης, στο Σχήμα 5.12 φαίνεται με μεγαλύτερη λεπτομέρεια το φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος Vid 16-17e, όπου διακρίνονται χαρακτηριστικές κορυφές των λιπαρών οξέων, αλλά και της ρητίνης σέλακ. Επιπροσθέτως, στο Σχήμα 5.13 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR του ίδιου δείγματος, όπου επίσης είναι εμφανείς οι χαρακτηριστικές κορυφές ξηραϊνόμενων ελαίων και ρητίνης σέλακ.



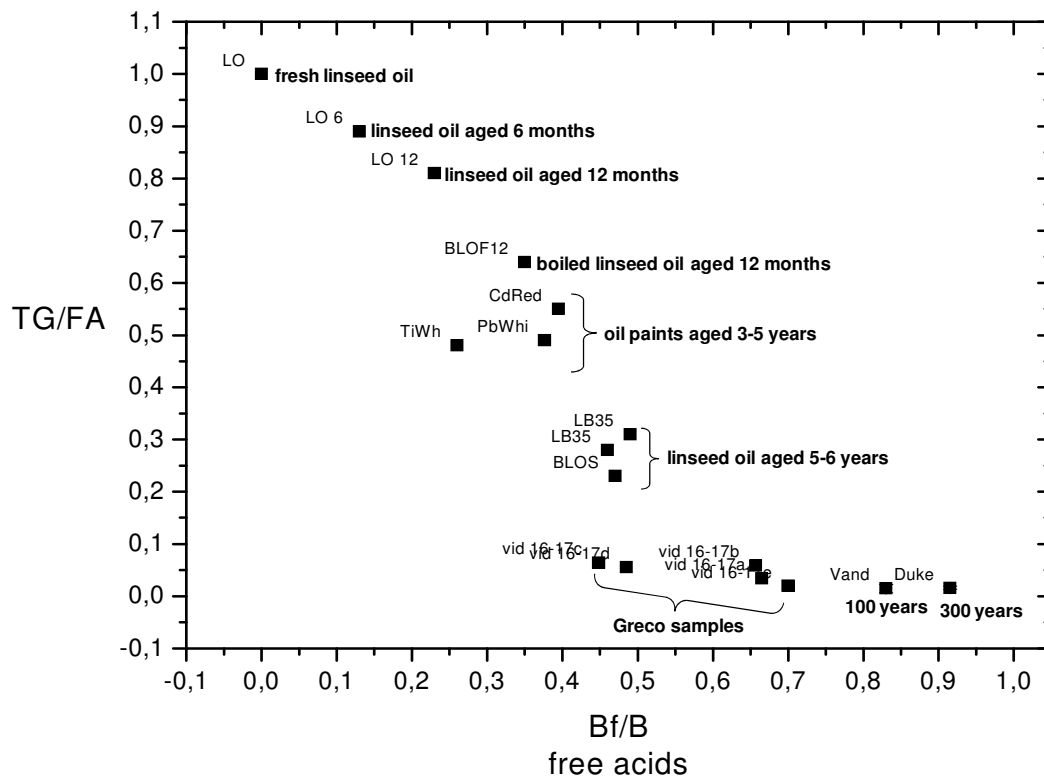
Σχήμα 5.12: Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος βερνικιού σε ακετόνη- d_6 από τον πίνακα «Η Βάπτιση του Χριστού», όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές ελαίων και ρητίνης σέλακ



Σχήμα 5.13: Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR δείγματος βερνικιού από τον πίνακα «Η Βάπτιση του Χριστού», όπου φαίνονται χαρακτηριστικές κορυφές ελαίων και ρητίνης σέλακ

Προκειμένου να εξετάσουμε τον παράγοντα γήρανσης των ελαίων που είναι παρόντα στο βερνίκι του πίνακα (97), ολοκληρώσαμε τις κορυφές T, Bf, B=Bf+Be και F, οι οποίες αντιστοιχούν στην ομάδα CH των τριγλυκεριδίων $R_1OCOC\text{H}_2(\text{CHOCOR}_2)\text{CH}_2\text{OCOR}_3$, στις ομάδες CH_2 των εστέρων CH_2COOH και οξέων CH_2COOR και στο μεθύλιο CH_3 των λιπαρών οξέων αντίστοιχα. Από αυτές τις τιμές υπολογίσαμε τον παράγοντα Bf/B, ο οποίος αντιστοιχεί στο λόγο των ελεύθερων/υδρολυμένων λιπαρών οξέων προς τα ολικά οξέα, και τον παράγοντα TG/FA, οποίος αντιστοιχεί στο λόγο των τριγλυκεριδίων προς τα ολικά λιπαρά οξέα. Ο λόγος TG/FA υπολογίζεται ως 9T/F, καθώς σε ένα τριγλυκερίδιο το πρωτόνιο της ομάδας CH αντιστοιχεί σε 9 πρωτόνια των τριών μεθυλίων CH_3 που αντιστοιχούν σε κάθε ομάδα R. Υπολογίζοντας τους παράγοντες TG/FA και Bf/B για κάθε δείγμα, φτιάχνουμε την παρακάτω γραφική παράσταση. Στον άξονα των x έχουμε τον παράγοντα Bf/B, δηλαδή την ποσότητα των υδρολυμένων λιπαρών οξέων προς την ολική ποσότητα των λιπαρών οξέων, εστεροποιημένα και ελεύθερα. Συνεπώς όσο πιο παλαιωμένο είναι ένα λάδι, τόσο πιο δεξιά στη γραφική παράσταση θα εμφανίζεται. Στον άξονα των y έχουμε τον παράγοντα TG/FA, δηλαδή την ποσότητα των τριγλυκεριδίων προς τα ολικά λιπαρά οξέα. Όσο πιο παλαιωμένο είναι δηλαδή ένα λάδι, τόσο πιο μικρός θα είναι αυτός ο παράγοντας, και άρα τόσο πιο χαμηλά στη γραφική παράσταση θα εμφανίζεται.

Στο γράφημα που εμφανίζεται στο Σχήμα 5.14 εκτός από τα δείγματα του πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού» έχουμε συμπεριλάβει δείγματα φρέσκου λινέλαιου, ελαφρώς γηρασμένου λινέλαιου (12 μήνες), αρκετά γηρασμένου λινέλαιου (3-5 χρόνια, καθώς και 5-6 χρόνια), αλλά και δείγματα από δύο άλλους πίνακες που έχουν αναλυθεί στο παρελθόν από το εργαστήριό μας (97). Ο ένας πίνακας είναι το «Πορτραίτο νεαρού άντρα» από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, και ο δεύτερος είναι «Ο Δούκας» από το 17^ο αιώνα. Από τη θέση των δειγμάτων μας στη γραφική παράσταση του Σχήματος 5.14 διαπιστώνεται πως τα δείγματα μας είναι πιο παλαιά από 6 χρόνων, αλλά λιγότερο από 100 χρόνων.



Σχήμα 5.14: Παράγοντας γήρανσης στα έλαια που ανιχνεύτηκαν στον πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού»

Από το παραπάνω διάγραμμα μπορούμε να διαπιστώσουμε πως αν και το βερνίκι του πίνακα είναι αρκετά παλαιωμένο, δεν μπορεί να είναι πάνω από 100 χρονών. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως το βερνίκι της ρητίνης σέλακ που ταυτοποιήθηκε στον πίνακα «Η βάπτιση του Χριστού» έχει προστεθεί σε αυτόν σε κάποια παλαιότερη συντήρησή του.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν σε κανένα δείγμα βερνικιού δεν ταυτοποιήθηκαν χαρακτηριστικές κορυφές που θα μπορούσαν να αποδοθούν στην παρουσία κηρού.

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μεθοδολογίας για την ανάλυση οργανικών υλικών αρχαιολογικών και ιστορικών αντικειμένων με τη φασματοσκοπία μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού (NMR). Επιλέχθηκαν προς ανάλυση μια σειρά φυσικών κηρών και τερπενοειδών ρητινών ως δείγματα αναφοράς ,με σκοπό την αναγνώριση χαρακτηριστικών συστατικών (markers) στα οργανικά υλικά που μας ενδιαφέρουν, μέσω των οποίων να μπορεί να γίνει η ταυτοποίησή τους σε γνήσια δείγματα αρχαιολογικού και ιστορικού ενδιαφέροντος.

Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε η ανάλυση μιας σειράς αρχαιολογικών δειγμάτων από την Πομπηία, καθώς και πιο σύγχρονων έργων τέχνης με τη φασματοσκοπία NMR. Κατά τις αναλύσεις διαπιστώθηκαν οι δυσκολίες που έγκεινται στην ανάλυση δειγμάτων από τους χώρους της αρχαιολογίας και της τέχνης. Κατά πρώτον, συχνά πρόκειται περί μιγμάτων υλικών, δύσκολο να διαχωριστούν και να ταυτοποιηθούν. Επίσης οι τεχνίτες ή/και καλλιτέχνες συχνά αναμίγνυαν υλικά ώστε να επιτύχουν τις συγκεκριμένες ιδιότητες που επιθυμούσαν. Ένας τρίτος παράγοντας που συμβάλει στην πολυπλοκότητα της ανάλυσης είναι η

παλαιότητα/γήρανση των δειγμάτων. Με την πάροδο του χρόνου τα υλικά αυτά συχνά αποικοδομούνται και/ή πολυμερίζονται σε προϊόντα μεγάλου μοριακού βάρους και σύνθετης δομής, κάνοντας την ανίχνευσή τους σε πολλές περιπτώσεις εξαιρετικά δύσκολη. Γνωρίζοντας λοιπόν πώς μετατρέπονται τα υλικά που μας ενδιαφέρουν με την πάροδο του χρόνου διευκολύνει κατά μεγάλο βαθμό την ταυτοποίηση τους σε αρχαιολογικά και ιστορικά δείγματα. Ένας τέταρτος παράγοντας εξίσου σημαντικός είναι η καλή κατανόηση του ιστορικού πλαισίου από όπου προέρχονται τα προς μελέτη δείγματα. Γνωρίζοντας τι υλικά χρησιμοποιούνταν την εποχή από όπου προέρχονται τα υλικά που μελετάμε ή κατά πώς χρησιμοποιούνταν τα αντικείμενα από όπου προέρχονται τα δείγματα περιορίζει το εύρος των υποψηφίων υλικών, και οδηγούμαστε πιο εύκολα στον επιτυχή προσδιορισμό τους.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στο Κεφάλαιο 4 μας οδηγούν στη διαπίστωση πως η φασματοσκοπία NMR είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για την ανάλυση οργανικών και αρχαιολογικών υλικών. Ένα θετικό σημείο είναι επίσης πως σε περίπτωση που δεν είναι δυνατός ο προσδιορισμός της σύστασης των αρχαιολογικών/ιστορικών υλικών που θέλουμε να μελετήσουμε με τη φασματοσκοπία NMR, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το ίδιο δείγμα, καθώς αυτό δεν καταστρέφεται κατά τη διάρκεια της ανάλυσης και να επιλέξουμε άλλη αναλυτική τεχνική που θα δώσει πιο συμπερασματικά αποτελέσματα.

Κλείνοντας την παρούσα εργασία, πιστεύουμε πως αξίζει να υπογραμμιστεί ότι στην πλειοψηφία των δειγμάτων που αναλύθηκαν επιτεύχθηκε ο επιτυχής προσδιορισμός οργανικών υλικών με τη φασματοσκοπία NMR, προτείνοντας μια μεθοδολογία εύκολη ως προς την πειραματολογία της και μη καταστροφική ως προς το δείγμα, καθώς ανακτάται πλήρως μετά το πέρας της ανάλυσης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Pollard, A.M., Batt, C.M., Stern, B. and Young, S.M.** *Analytical Chemistry in Archaeology*. Cambridge : Cambridge University Press, 1996.
2. **Jones, A.** Archaeometry and Materiality: Materials-Based Analysis in Theory and Practice. *Archaeometry*. 2004, Vol. 46, pp. 327–338.
3. **Ehrenreich, R. M.** Archaeometry into Archaeology. *Journal of Archaeological Method and Theory*. 1995, Vol. 2, pp. 1-6.
4. **Halsam, M.** An Archaeology of the Instant? Action and Narrative in Microscopic Archaeological Residue Analyses. *Journal of Social Archaeology*. 2006, Vol. 6, pp. 402–424.
5. **Spoto, G.** Detecting Past Attempts To Restore Two Important Works of Art. *Accounts of Chemical Research*. 2002, Vol. 35, pp. 652-659.
6. **Thornton, M. D., Morgan, E. D., and Celoria, F.** The composition of bog butter. *Science and Archaeology*. 1970, Vol. 2/3, pp. 20–25.
7. **Condamin, J., Formenti, F., Metais, M. O., Michel, M., and Blond, P.** The Application of Gas Chromatography to the Tracing of Oil in Ancient Amphorae. *Archaeometry*. 1976, Vol. 18, pp. 195–201.
8. **Knights, B. A., Dickson, C. A., Dickson, J. H., and Breeze, D. J.** Evidence Concerning the Roman Military Diet at Bearsden, Scotland, in the 2nd Century AD. *Journal of Archaeological Science*. 1983, Vol. 10, pp. 139–152.
9. **Evershed, R. P., Jerman, K. and Eglinton, G.** Pine Wood Origin for Pitch from the Mary Rose. *Nature*. 1985, Vol. 314, pp. 528-530.
10. **Mills, J. S., and White, R.** The Identity of the Resins from the Late Bronze Age Shipwreck at Ulu Burun (Kas). *Archaeometry*. 1989, Vol. 31, pp. 37–44.
11. **Evershed, R. P., Heron, C. and Goad, L. J.** Analysis of Organic Residues of Archaeological Origin by High Temperature Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Analyst*. 1990, Vol. 115, pp. 1339–1342.
12. **Evershed, R. P., Heron, C. and Goad, L. J.** Epicuticular Wax Components Preserved in Potsherds as Chemical Indicators of Leafy Vegetables in Ancient Diets. *Antiquity*. 1991, Vol. 65, pp. 540–544.
13. **Oudemans, T. F. M., and Boon, J. J.** Molecular Archaeology: Analysis of Charred (Food) Remains from Prehistoric Pottery by Pyrolysis–Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 1991, Vol. 20, pp. 197–227.

14. **Evershed, R. P., Heron, C., Charters, S., and Goad, L. J.** The Survival of Food Residues: New Methods of Analysis, Interpretation and Application. *Proceedings of the British Academy*. 1992, Vol. 77, pp. 187–208.
15. **Evershed, R. P.** Biomolecular Archaeology and Lipids. *World Archaeology*. 1993, Vol. 25, pp. 74-93.
16. **Charters, S., Evershed, R. P., Goad, L. J., Blinkhorn, P. W. and Denham, V.** Quantification and Distribution of Lipid in Archaeological Ceramics: Implications for Sampling Potsherds for Organic Residue Analysis. *Archaeometry*. 1993, Vol. 35, pp. 211–223.
17. **Heron, C., Nemcek, N., Bonfield, K.M., Dixon, D., and Ottaway, B.S.** The chemistry of Neolithic Beeswax. *Naturwissenschaften*. 1994, Vol. 81, pp. 266-269.
18. **Evershed, R. P., Stott, A. W., Raven, A., Dudd, S. N., Charters, S., and Leyden, A.** Formation of Long-Chain Ketones in Ancient Pottery Vessels by Pyrolysis of Acyl Lipids. *Tetrahedron Letters*. 1995, Vol. 36, pp. 8875–8878.
19. **Charters, S., Evershed, R. P., Blinkhorn, P. W. and Denham, V.** Evidence for the Mixing of Fat and Wax in Archaeological Ceramics. *Archaeometry*. 1995, Vol. 37, pp. 113–128.
20. **Evershed, R. P.** Organic Residue Analysis in Archaeology: The Archaeological Biomarker Revolution. *Archaeometry*. 2008, Vol. 50, pp. 895–924.
21. **Heron, C., Evershed, R. P. and Goad, L. J.** Effects of Migration of Soil Lipids on Organic Residues Associated with Buried Potsherds. *Journal of Archaeological Science*. 1991, Vol. 18, pp. 641–659.
22. **Evershed, R. P., Mottram, H. R., Dudd, S. N., Charters, S., Stott, A. W., Lawrence, G. J., Gibson, A. M., Conner, A., Blinkhorn, P. W., and Reeves, V.** New Criteria for the Identification of Animal Fats in Archaeological Pottery. *Naturwissenschaften*. 1997, Vol. 84, pp. 402–406.
23. **Raven, A. M., Van Bergen, P. F., Stott, A. W., Dudd, S. N., and Evershed, R. P.** Formation of Long-Chain Ketones in Archaeological Pottery Vessels by Pyrolysis of Acyl Lipids. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 1997, Vol. 40/41, pp. 267–285.
24. **Mayer, B. X., Reiter, C., and Bereuter, T. L.** Investigation of the Triacylglycerol Composition of Iceman’s Mummified Tissue by High-Temperature Gas Chromatography. *Journal of Chromatography B*. 1997, Vol. 692, pp. 1-6.
25. **Regert, M., Bland, H. A., Dudd, S. N., Van Bergen, P. F. and Evershed, R. P.** Free and Bound Fatty Acid Oxidation Products in Archaeological Ceramic Vessels. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 1998, Vol. 265, pp. 2027-2032.
26. **Mottram, H. R., Dudd, S. N., Lawrence, G. J., Stott, A. W., and Evershed, R. P.** New Chromatographic, Mass Spectrometric and Stable Isotope Approaches to the Classification of Degraded Animal Fats Preserved in Archaeological Pottery. *Journal of Chromatography A*. 1999, Vol. 833, pp. 209–221.

27. **Stern, B., Heron, C., Serpico, M., and Bouiau, J.** A Comparison of Methods for Establishing Fatty Acid Concentration Gradients Across Potsherds: a Case Study Using Late Bronze Age Canaanite Amphorae. *Archaeometry*. 2000, Vol. 42, pp. 399–414.
28. **Maurer, J., Möhring, T., Rullkötter, J., and Nissenbaum, A.** Plant Lipids and Fossil Hydrocarbons in Embalming Material of Roman Period Mummies from the Dakhleh Oasis, Western Desert, Egypt. *Journal of Archaeological Science*. 2002, Vol. 29, pp. 751–762.
29. **Kimpe, K., Jacobs, P. A., and Waelkens, M.** Analysis of Oil Used in Late Roman Oil Lamps with Different Mass Spectrometric Techniques Revealed the Presence of Predominantly Olive Oil Together with Traces of Animal Fat. *Journal of Chromatography A*. 2002, Vol. 937, pp. 87–95.
30. **Mukherjee, A. J., Gibson, A. M., and Evershed, R. P.** Trends in Pig Product Processing at British Neolithic Grooved Ware Sites Traced through Organic Residues in Potsherds. *Journal of Archaeological Science*. 2008, Vol. 35, pp. 2059–2073.
31. **Lluveras, A., Bonaduce, I., Andreotti, A. and Colombini, M.-P.** GC/MS Analytical Procedure for the Characterization of Glycerolipids, Natural Waxes, Terpenoid Resins, Proteinaceous and Polysaccharide Materials in the Same Paint Microsample Avoiding Interferences from Inorganic Media. *Analytical Chemistry*. 2010, Vol. 82, pp. 376–386.
32. **Regert, M.** Analytical Strategies for Discriminating Archaeological Fatty Substances from Animal Origin. *Mass Spectrometry Reviews*. 2011, Vol. 30, pp. 177–220.
33. **Dudd, S. N. and Evershed, R. P.** Direct Demonstration of Milk as an Element of Archaeological Economies. *Science*. 282, 1998, pp. 1478–1481.
34. **Copley, M. S., Berstan, R., Dudd, S. N., Straker, V., Payne, S. and Evershed, R. P.** Dairying in antiquity: I - Evidence from Absorbed Lipid Residues Dating to the British Iron Age. *Journal of Archaeological Science*. 2005, Vol. 32, pp. 485–503.
35. **Copley, M. S., Berstan, R., Dudd, S. N., Straker, V., Payne, S. and Evershed, R. P.** Dairying in antiquity: II - Evidence from Absorbed Lipid Residues Dating to the British Bronze Age. *Journal of Archaeological Science*. 2005, Vol. 32, pp. 505–521.
36. **Copley, M. S., Berstan, R., Dudd, S. N., Straker, V., Payne, S. and Evershed, R. P.** Dairying in antiquity: III - Evidence from Absorbed Lipid Residues Dating to the British Neolithic. *Journal of Archaeological Science*. 2005, Vol. 32, pp. 523–546.
37. **Copley, M. S., Berstan, R., Dudd, S. N., Aillaud, S., Mukherjee, A. J., Straker, V., Payne, S. and Evershed, R. P.** Processing of Milk Products in Pottery Vessels through British Prehistory. *Antiquity*. 2005, Vol. 79, pp. 895–908.
38. **Mirabaud, S., Rolando, C. and Regert, M.** Molecular Criteria for Discriminating Adipose Fat and Milk from Different Species by NanoESI and MS/MS of their Triacylglycerols: Application to Archaeological Remains. *Analytical Chemistry*. 2007, Vol. 79, pp. 6182–6192.

39. **Hurst, W. J., Martin, R. A., Tarka, S. M., and Hall, G. D.** Authentication of Cocoa in Maya Vessels Using High Performance Liquid Chromatographic Techniques. *Journal of Chromatography*. 1989, Vol. 466, pp. 279–290.
40. **Evershed, R. P., Bland, H. A., van Bergen, P. F., Carter, J. F., Horton, M. C., and Rowley-Conwy, P. A.** Volatile Compounds in Archaeological Plant Remains and the Maillard Reaction during Decay of Organic Matter. *Science*. 1997, Vol. 278, pp. 432–433.
41. **Hurst, W. J., Tarka, S. M., Powis, T. G., Valdez, R., and Hester, T. R.** Cacao Usage by the Earliest Maya Civilisation. *Nature*. 2002, Vol. 418, pp. 289–290.
42. **Colombini, M.-P., Ceccarini, A. and Carmignani, A.** Ion Chromatography Characterization of Polysaccharides in Ancient Wall Paintings. *Journal of Chromatography A*. 2002, Vol. 968, pp. 79–88.
43. **Hansel, F. A., Copley, M. S., Madureira, L. A. S., and Evershed, R. P., 2004.** Thermally Produced Omega-(o-alkylphenyl)-alkanoic Acids Provide Evidence for the Processing of Marine Products in Archaeological Pottery Vessels. *Tetrahedron Letters*. 2004, Vol. 45, pp. 2999–3002.
44. **Copley, M. S., Hansel, F. A., Sadr, K. and Evershed, R. P.** Organic Residue Evidence for the Processing of Marine Animal Products in Pottery Vessels from the Pre-Colonial Archaeological Site of Kasteelberg D East, South Africa. *South African Journal of Science*. 2004, Vol. 100, pp. 279–283.
45. **Evershed, R. P., Copley, M. S., Hansel, F. A., Dickson, L., Sadr, K., and Madureira, L. A. S.** Experimental Evidence for the Processing of Marine Animal Products in Pottery Vessels. *Archaeometry*. 2008, Vol. 50, pp. 101–113.
46. **Solazzo, C., Fitzhugh, W. W., Rolando, C., and Tokarski, C.** Identification of Protein Remains in Archaeological Potsherds by Proteomics. *Analytical Chemistry*. 2008, Vol. 80, pp. 4590–4597.
47. **Hansel, F. A., and Evershed, R. P.** Formation of Dihydroxyacids from Z-Monounsaturated Alkenoic Acids and their Use as Biomarkers for Processing of Marine Commodities in Archaeological Pottery Vessels. *Tetrahedron Letters*. 2009, Vol. 50, pp. 5562–5564.
48. **McGovern, P. E., Glusker, D. L., Exner, L. J., and Voigt, M. M.** Neolithic Resinated Wine. *Nature*. 1996, Vol. 381, pp. 480–481.
49. **Guasch-Jané, M. R., Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Jáuregui, O., and Lamuela-Raventos, R. M.** Liquid Chromatography with Mass Spectrometry in Tandem Mode Applied for the Identification of Wine Markers in Residues from Ancient Egyptian Vessels. *Analytical Chemistry*. 2004, Vol. 76, pp. 1672–1677.
50. **McGovern, P. E., Zhang, J., Tang, J., Zhang, Z., Hall, G. R., Moreau, R. A., Nuñez, A., Butrym, E. D., Richards, M. P., Wang, C.-S., Cheng, G., Zhao, Z., and Wang, C.** Fermented Beverages of Pre- and Proto-Historic China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2004, Vol. 101, pp. 593–598.

51. **Guasch-Jané, M. R., Andrés-Lacueva, C., Jáuregui, O., and Lamuela-Raventos, R. M.** First Evidence for White Wine in Ancient Egypt from Tutankhamun's Tomb. *Journal of Archaeological Science*. 2006, Vol. 33, pp. 1075–1080.
52. **Charters, S., Evershed, R. P., Quye, A., Blinkhorn, P. W. and Denham, V.** Simulation Experiments for Determining the Use of Ancient Pottery Vessels: the Behavior of Epicuticular Leaf Wax During Boiling of a Leafy Vegetable. *Journal of Archaeological Science*. 1997, Vol. 24, pp. 1-7.
53. **Regert, M., Langlois, J., Laval, E., Le Ho, A.-S. and Pages-Camagna, S.** Elucidation of Molecular and Elementary Composition of Organic and Inorganic Substances Involved in 19th Century Wax Sculptures Using an Integrated Analytical Approach. *Analytica Chimica Acta*. 2006, Vol. 577, pp. 140-152.
54. **Namdar, D., Neumann, R., Goren, Y. and Weiner, S.** The Contents of Unusual Cone-Shaped Vessels (Cornets) from the Chalcolithic of the Southern Levant. *Journal of Archaeological Science*. 2009, Vol. 36, pp. 629–636.
55. **Stacey, R. J.** The Composition of Some Roman Medicines: Evidence for Pliny's Punic Wax? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011, Vol. 401, pp. 1749–1759.
56. **Beck, C. W., Stout, E. C. and Jänne, P. A.** The Pyrotechnology of Pine Tar and Pitch inferred from Quantitative Analyses by Gas Chromatography - Mass Spectrometry and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry. [ed.] W. Brzezinski and W. Piotrowski. *Proceedings of the First International Symposium on Wood Tar and Pitch, Biskupin, Poland, July 1-4, 1993*. Warsaw : State Archaeological Museum, 1997, pp. 181-192.
57. **Dudd, S. N. and Evershed, R. P.** Unusual Triterpenoid Fatty Acyl Ester Components of Archaeological Birch Bark Tars. *Tetrahedron Letters*. 1999, Vol. 40, pp. 359-362.
58. **Connan, J.** Use and Trade of Bitumen in Antiquity and Prehistory: Molecular Archaeology Reveals Secrets of Past Civilizations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B—Biological Sciences*. 1999, Vol. 354, pp. 33–50.
59. **Regert, M., Deviese, T., Le Ho, A.-S and Rougeulle, A.** Reconstructing Ancient Yemeni Commercial Routes During the Middle Ages Using Structural Characterization of Terpenoid Resins. *Archaeometry*. 2008, Vol. 50, pp. 668-695.
60. **Stern, B., Heron, C., Tellefsen, T., and Serpico, M.** New Investigations into the Ulu Burun Resin Cargo. *Journal of Archaeological Science*. 2008, Vol. 35, pp. 2188–2203.
61. **Ribechini, E., Modugno, F., Colombini, M. P., and Evershed, R. P.** Gas Chromatographic and Mass Spectrometric Investigations of Organic Residues from Roman Glass Unguentaria. *Journal of Chromatography A*. 2008, Vol. 1182, pp. 158–169.
62. **Ribechini, E., Modugno, F., Baraldi, C., Baraldi, P., and Colombini, M. P.** An Integrated Approach for Characterising an Organic Residue from an Archaeological

Glass Bottle Recovered in Pompeii (Naples, Italy). *Talanta*. 2008, Vol. 74, pp. 555–561.

63. **Baumer, U., Dietemann, P. and Koller, J.** Identification of Resinous Materials on 16th and 17th Century Reverse-Glass Objects by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2009, Vol. 284, pp. 131–141.

64. **Regert, M., Delacotte, J. M., Menu, M., Pétrequin, P., and Rolando, C.** Identification of Neolithic Adhesives from two Lake Dwellings at Chalain (Jura, France). *Ancient Biomolecules*. 1998, Vol. 2, pp. 81–96.

65. **Regert, M., Vacher, S., Moulherat, C., and Decavallas, O.** Adhesive Production and Pottery Function During the Iron Age at the Site of Grand Aunay (Sarthe, France). *Archaeometry*. 2003, Vol. 45, pp. 101–120.

66. **Regert, M.** Investigation of Prehistoric Glues by Gas Chromatography—Mass Spectrometry. *Journal of Separation Science*. 2004, Vol. 27, pp. 244–254.

67. **Modugno, F., Ribechini, E. and Colombini, M.-P.** Aromatic Resin Characterisation by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. Raw and Archaeological Materials. *Journal of Chromatography A*. 2006, Vol. 1134, pp. 298–304.

68. **Mejanelle, P., Bleton, J., Goursaud, S., and Tchaplal, A.** Identification of Phenolic Acids and Inositols in Balms and Tissues from an Egyptian Mummy. *Journal of Chromatography A*. 1997, Vol. 767, pp. 177–186.

69. **Van Bergen, P. F., Peakman, T. M., Leigh-Firbank, E. C., and Evershed, R. P.** Chemical Evidence for Archaeological Frankincense: Boswellic Acids and their Derivatives in Solvent Soluble and Insoluble Fractions of Resin-like Materials. *Tetrahedron Letters*. 1997, Vol. 38, pp. 8409–8412.

70. **Colombini, M.-P., Modugno, F., Silvano, F. and Onor, M.** Characterization of the Balm of an Egyptian Mummy from the 7th Century BC. *Studies in Conservation*. 2000, Vol. 45, pp. 19–29.

71. **Evershed, R. P., Berstan, R., Grew, F., Copley, M. S., Charmant, A. J. H., Barham, E., Mottram, H. R., and Brown, G.** Formulation of a Roman Cosmetic. *Nature*. 2004, Vol. 432, pp. 35–36.

72. **Marinach, C., Papillon, M.-C. and Pepe, C.** Identification of Binding Media in Works of Art by Gas Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Cultural Heritage*. 2004, Vol. 5, pp. 231–240.

73. **Duran, A., Jimenez de Haro, M. C., Perez-Rodriguez, J. L., Franquelo, M. L., Herrera, L. K. and Justo, A.** Determination of Pigments and Binders in Pompeian Wall Paintings Using Synchrotron Radiation - High Resolution X-Ray Powder Diffraction and Conventional Spectroscopy - Chromatography. *Archaeometry*. 2010, Vol. 52, pp. 286–307.

74. **Colombini, M.-P., Modugno, F., Giannarelli, S., Fuoco, R. and Matteini, M.** GC-MS Characterization of Paint Varnishes. *Microchemical Journal*. 2000, Vol. 67, pp. 385-396.
75. **Colombini, M. P., Giachi, G., Modugno, F., Pallecchi, P., and Ribechini, E.** The Characterization of Paints and Waterproofing Materials from the Shipwrecks Found at the Archaeological Site of the Etruscan and Roman Harbour of Pisa (Italy). *Archaeometry*. 2003, Vol. 45, pp. 659-674.
76. **Osete-Cortina, L., and Doménech-Carbó, M. T.** Analytical Characterization of Diterpenoid Resins Present in Pictorial Varnishes Using Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2005, Vol. 1065, pp. 265-278.
77. **Echard, J. P., Benoit, C., Peris-Vicente, J., Malecki, V., Gimeno-Adelantado, J. V. and Vaiedelich, S.** Gas Chromatography/Mass Spectrometry Characterization of Historical Varnishes of Ancient Italian Lutes and Violin. *Analytica Chimica Acta*. 2007, Vol. 584, pp. 172-180.
78. **Echard, J. P. and Lavedrine, B.** Review on the Characterisation of Ancient Stringed Musical Instruments Varnishes and Implementation of an Analytical Strategy. *Journal of Cultural Heritage*. 2008, Vol. 9, pp. 420-429.
79. **O'Donoghue, K., Brown, T. A., Carter, J. F., and Evershed, R. P.** Detection of Nucleotides Bases in Ancient Seeds Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1994, Vol. 8, pp. 503-508.
80. **O'Donoghue, K., Brown, T. A., Carter, J. F., and Evershed, R. P.** Application of High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry with Electrospray Ionisation to the Detection of DNA Nucleosides in Ancient Seeds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1996, Vol. 10, pp. 495-500.
81. **Stott, A. W., and Evershed, R. P.** $\delta^{13}\text{C}$ Analysis of Cholesterol Preserved in Archaeological Bones and Teeth. *Analytical Chemistry*. 1996, Vol. 68, pp. 4402-4408.
82. **Howland, M. R., Corr, L. T., Young, S. M., Jones, V., Jim, S., van der Merwe, N. J., Mitchell, A. D.D., and Evershed, R. P.** Expression of the Dietary Isotope Signal in the Compound-Specific $\delta^{13}\text{C}$ Values of Pig Bone Lipids and Amino Acids. *International Journal of Osteoarchaeology*. 2003, Vol. 13, pp. 54-65.
83. **Copley, M. S., Bland, M. A., Rose, P., Horton, M. and Evershed, R. P.** Gas Chromatographic, Mass Spectrometric and Stable Carbon Isotopic Investigations of Organic Residues of Plant Oils and Animal Fats Employed as Illuminants in Archaeological Lamps from Egypt. *Analyst*. 2005, Vol. 130, pp. 860-871.
84. **Charrie-Duhaut, A., Burger, P., Maurer, J., Connan, J. and Albrecht, P.** Molecular and Isotopic Archaeology: Top Grade Tools to Investigate Organic Archaeological Materials. *Comptes Rendus Chimie*. 2009, Vol. 12, pp. 1140-1153.

85. **Beck, C., Wilbur, E., Meret, S., Kossove, D. and Kermani, K.** The Infrared Spectra of Amber and the Identification of Baltic Amber. *Archaeometry*. 1965, Vol. 8, pp. 96–109.
86. **Oudemans, T. F. M., Boon, J. J. and Botto, R. E.** FT-IR and Solid State ¹³C CP/MAS NMR Spectroscopy of Charred and Non-charred Solid Organic Residues Preserved in Roman Iron Age Vessels from the Netherlands. *Archaeometry*. 2007, Vol. 49, pp. 571–594.
87. **Edwards, H. G., Sibley, M. G., Derham, B. and Heron, C. P.** Raman Spectroscopy of Archaeological Samples from the Barber–Surgeon’s Medicine Chest on the Mary Rose. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2004, Vol. 35, pp. 746–753.
88. **Vandenabeele, P., Wohling, B., Moens, L., Edwards, H., De Ren, M., and Van Hooydonk, G.** Analysis with Micro-Raman Spectroscopy of Natural Organic Binding Media and Varnishes Used in Art. *Analytica Chimica Acta*. 2000, Vol. 407, pp. 261–274.
89. **Madariaga, J. M.** Raman Spectroscopy in Art and Archaeology. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2010, Vol. 41, pp. 1389–1393.
90. **Lambert, J. B., Frye, J. S., and Poinar, G. O. Jr.** Amber from the Dominican Republic: Analysis by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Archaeometry*. 1985, Vol. 27, pp. 43–51.
91. **Ghisalberti, E., L. and Godfrey, I., M.** The Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy to the Analysis of Pitches and Resins from Marine Archaeological Sites. *The bulletin of the Australian Institute for Maritime Archaeology*. 1990, Vol. 14, pp. 1–8.
92. **Sherriff, B. L., Tisdale, M. A., Sayer, B. G., Schwarcz, H. P., and Knyf, M.** Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic and Isotopic Analysis of Carbonized Residues from Subarctic Canadian Prehistoric Pottery. *Archaeometry*. 1995, Vol. 37, pp. 95–111.
93. **Ghisalberti, E. L. and Godfrey, I. M.** Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy to the Analysis of Organic Archaeological Materials. *Studies in Conservation*. 1998, Vol. 43, pp. 215–230.
94. **Lambert, J. B., Shawl, C. E. and Stearns, J. A.** Nuclear Magnetic Resonance in Archaeology. *Chemical Society Reviews*. 2000, Vol. 29, pp. 175–182.
95. **Schmid, E.-M., Knicker, H., Bäumler, R. and Kögel-Knabner, I.** Chemical Composition of the Organic Matter in Neolithic Soil Material as Revealed by CPMAS ¹³C NMR Spectroscopy, Polysaccharide Analysis and CuO Oxidation. *Soil Science*. 2001, Vol. 166, pp. 569–584.
96. **Viel, S., Capitani, D., Proietti, N., Ziarelli, F. and Segre, A. L.** NMR Spectroscopy Applied to the Cultural Heritage: a Preliminary Study on Ancient Wood Characterisation. *Applied Physics A*. 2004, Vol. 79, pp. 357–361.

97. **Spyros, A. and Anglos, D.** Study of Aging in Oil Paintings by 1D and 2D NMR Spectroscopy. *Analytical Chemistry*. 2004, Vol. 76, pp. 4929-4936.
98. **Spyros, A. and Anglos, D.** Studies of Organic Paint Binders by NMR Spectroscopy. *Applied Physics A*. 2006, Vol. 83, pp. 705-708.
99. **Skakovskii, E. D., Tychinskaya, L. Y., Gaidukevich, O. A., Kozlov, N. G., Klyuev, A. Y., Lamotkin, S. A., Shpak, S. I. and Rykov, S. V.** NMR Determination of the Composition of Basalms from Scotch Pine Resin. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2008, Vol. 75, pp. 439-443.
100. **Pournou, A.** Deterioration Assessment of Waterlogged Archaeological Lignocellulosic Material via ^{13}C CP/MAS NMR. *Archaeometry*. 2008, Vol. 50, pp. 129-141.
101. **Cipriani, G., Salvini, A., Dei, L., Macherelli, A., Cecchi, F. S. and Giannelli, C.** Recent Advances in Swollen-state NMR Spectroscopy for the Study of Drying Oils. *Journal of Cultural Heritage*. 2009, Vol. 10, pp. 388-395.
102. **Lambert, J. B., Tsai, C. Y.-H., Shah, M. C., Hurlley, A. E. and Santiago-Blay, J. A.** Distinguishing Amber and Copal Classes by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *Archaeometry*. 2012, Vol. 54, pp. 332-348.
103. **Zoia, L., Tolppa, E.-L., Pirovano, L., Salanti, A. and Orlandi, M.** ^1H -NMR and ^{31}P -NMR Characterization of the Lipid Fraction in Archaeological Ointments. *Archaeometry*. in press.
104. **Brai, M., Camaiti, M., Casieri, C., De Luca, F. and Fantazzini, P.** Nuclear Magnetic Resonance for Cultural Heritage. *Magnetic Resonance Imaging*. 2007, Vol. 25, pp. 461-465.
105. **Blumich, B., Casanova, F., Perlo, J., Presciutti, F., Anselmi, C. and Doherty, B.** Noninvasive Testing of Art and Cultural Heritage by Mobile NMR. *Accounts of Chemical Research*. 2010, Vol. 43, pp. 761-770.
106. **Colombini, M.-P., Modugno, F., Gamberini, M., C., Rocchi, M., Baraldi, C., Deviese, T., Stacey, R., J., Orlandi, M., Saliu, F., Riedo, C., Chiantore, O., Sciotto, G., E. Catelli, E., Brambilla, L., Toniolo, L., Miliani, C., Rocchi, P., Bleton, J.,** A Round Robin Exercise in Archaeometry: Analysis of a Blind Sample Reproducing a Seventeenth Century Pharmaceutical Ointment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011, Vol. 401, pp. 1847-1860.
107. **Colombini, M.-P., Giachi, G., Modugno, F. and Ribechini, E.** Characterisation of Organic Residues in Pottery Vessels of the Roman Age from Antinoe (Egypt). *Microchemical Journal*. 2005, Vol. 79, pp. 83-90.
108. **Colombini, M.-P., Modugno, F., and Ribechini, E.** Direct Exposure Electron Ionization Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Mass Spectrometry Techniques to Study Organic Coatings on Archaeological Amphorae. *Journal of Mass Spectrometry*. 2005, Vol. 40, pp. 675-687.

109. **Modugno, F., Ribechini, E. and Colombini, M.-P.** Chemical Study of Triterpenoid Resinous Materials in Archaeological Findings by Means of Direct Exposure Electron Ionisation Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2006, Vol. 20, pp. 1787–1800.
110. **Ribechini, E., Modugno, F. and Colombini, M. P.** Direct Exposure (Chemical Ionisation) Mass Spectrometry for a Rapid Characterization of Raw and Archaeological Diterpenoid Resinous Materials. *Microchim Acta*. 2008, Vol. 162, pp. 405–413.
111. **Regert, M., Garnier, N., Decavallas, O., Cren-Olive, C. and Rolando, C.** Structural Characterization of Lipid Constituents from Natural Substances Preserved in Archaeological Environments. *Measurement Science and Technology*. 2003, Vol. 14, pp. 1620-1630.
112. **Van der Doelen, G. A., Van den Berg, K. J., Boon, J. J., Shibayama, N., De la Rie, E. R. and Genuit, W. J. L.** Analysis of Fresh Triterpenoid Resins and Aged Triterpenoid Varnishes by High-Performance Liquid Chromatography–Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (tandem) Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1998, Vol. 809, pp. 21-37.
113. **Scalarone, D., Van der Horst, J., Boon, J. J. and Chiantore, O.** Direct-temperature Mass Spectrometric Detection of Volatile Terpenoids and Natural Terpenoid Polymers in Fresh and Artificially Aged Resins. *Journal of Mass Spectrometry*. 2003, Vol. 38, pp. 607–617.
114. **Barnard, H., Ambrose, S. H., Beehr, D. E., Forster, M. D., Lanehart, R. E., Malainey, M. E., Parr, R. E., Rider, M., Solazzo, C., and Yohe, R. M. II.** Mixed Results of Seven Methods for Organic Residue Analysis Applied to one Vessel with the Residue of a Known Foodstuff. *Journal of Archaeological Science*. 2007, Vol. 34, pp. 28-37.
115. **Warth, A. H.** Lipid Waxes. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*. 1957, Vol. 4, pp. 79-96.
116. **Mills, J. S. and White, R.** *The Organic Chemistry of Museum Objects*. Oxford : Butterworth-Heinmann, 1994.
117. **Asperger, A., Engewald, W. and Fabian, G.** Advances in the Analysis of Natural Waxes Provided by Thermally Assisted Hydrolysis and Methylation (THM) in Combination with GC:MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 1999, Vol. 52, pp. 51–63.
118. **Holloway, P. J.** The Composition of Beeswax Alkyl Esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1968, Vol. 46, pp. 189-190.
119. **Tulloch, A. P.** Beeswax: Structure of the Esters and their Component Hydroxy Acids and Diols. *Chemistry and Physics of Lipids*. 1971, Vol. 6, pp. 235-265.

120. **Tulloch, A. P. and Hoffman, L. L.** Canadian Beeswax: Analytical Values and Composition of Hydrocarbons, Free Acids and Long Chain Esters. *Journal of the American Chemists' Society*. 1972, Vol. 49, pp. 696-699.
121. **Tulloch, A. P.** Analysis of Whole Beeswax by Gas Liquid Chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1972, Vol. 49, pp. 609-610.
122. **Regert, M., Colinart, L., Degrand, L. and Decavallas, O.** Chemical Alteration and Use of Beeswax Through Time: Accelerated Ageing Tests and Analysis of Archaeological Samples From Various Environmental Contexts. *Archaeometry*. 2001, Vol. 43, pp. 549-569.
123. **Klein, B. A.** Insects and Arachnids as Arts Media. [ed.] E. Motte-Florac and J. M.C. Thomas. Paris-Louvain : Peeters-SELAF (Ethnoscience), 2002, pp. 175-196.
124. **Evershed, R. P., Anderson-Stojanovic, V. R., Dudd, S. N., and Gebhard, E. R.** New Chemical Evidence for the Use of Combed Ware Pottery Vessels as Beehives in Ancient Greece. *Journal of Archaeological Science*. 2003, Vol. 31, pp. 1-12.
125. **Evershed, R. P., Vaughan, S. J., Dudd, S. N., and Soles, J. S.** Fuel for Thought? Beeswax in Lamps and Conical Cups from Late Minoan Crete. *Antiquity*. 1997, Vol. 71, pp. 979-985.
126. **Holloway, P. J.** Chemistry of Leaf Waxes in Relation to Wetting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1969, Vol. 20, pp. 124-128.
127. **Vandenburg, L. E. and Wilder, E. A.** The Structural Constituents of Carnauba Wax. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1970, Vol. 47, pp. 514-518.
128. **Tulloch, A. P.** Comparison of Some Commercial Waxes by Gas Liquid Chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1973, Vol. 50, pp. 367-371.
129. **Barnes, C. S., Galbraith, M. N., Ritchie, E. and Taylor, W. C.** Carnaubadiol, a Triterpene from Carnauba Wax. *Australian Journal of Chemistry*. 1965, Vol. 18, pp. 1411-1422.
130. **De Brito Cysne, J., Braz-Filho, R., Assuncao, M. V., de Andrade Uchoa, D. E., Silveira, E. R. and Pessoa, O. D.** ¹H and ¹³C NMR Spectral Assignments of Four Dammarane Triterpenoids from Carnauba Wax. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2006, Vol. 44, pp. 641-643.
131. **Scora, G. A., Ahmed, M. and Scora, R. W.** Epicuticular Hydrocarbons of Candelilla (*Euphorbia Antisiphylitica*) from Three Different Geographical Areas. *Industrial Crops and Products*. 1995, Vol. 4, pp. 179-184.
132. **Schuette, H. A. and Baldinus, J. G.** Studies on Candelilla Wax. II. Its n-Paraffins. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1949, Vol. 27, pp. 651-652.

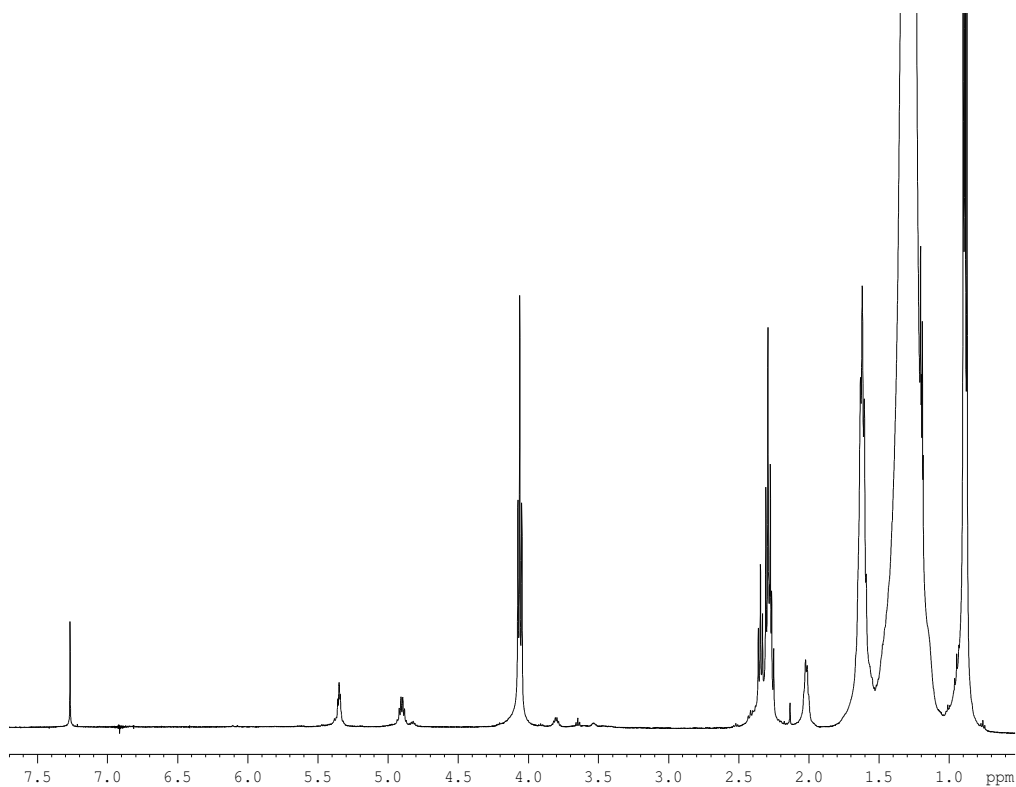
133. **Schuette, H. A. and Baldinus, J. G.** Studies on Candelilla Wax. I. Its n-Acids and n-Alcohols. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1949, Vol. 27, pp. 530-532.
134. **Wiendehof, N.** Analysis of Plant Waxes by Means of Chromatography and X-Ray Diffraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1959, Vol. 36, pp. 297-300.
135. **Mills, J. S.** The Constitution of the Neutral, Tetracyclic Triterpenes of Dammar Resin. *Journal of the Chemical Society*. 1956, pp. 2196-2202.
136. **Mills, J. S., and Werner, A. E. A.** The Chemistry of Dammar Resin. *Journal of the Chemical Society*. 1955, pp. 3132-3140.
137. **Arigoni, D., Barton, D. H. R., Bernasconi, R., Djerassi, C., Mills, J. S., and Wolff, R. E.** The Constituents of Dammarenolic and Nyctanthic Acid. *Journal of the Chemical Society*. 1960, pp. 1900-1905.
138. **Harrison, H. R., Hodder, O. J. R., Brewis, S., and Halsall, T. G.** Chemistry of triterpenes and related compounds. XLVII. Crystal and Molecular Structure of 'Compound B', a Triterpene Dimethyl Ester Epsilon-lactone from Dammar Resin. *Journal of the Chemical Society C*. 1971, pp. 2525-2529.
139. **Mills, J. S.** Diterpenes of Larix oleoresins. *Phytochemistry*. 1973, Vol. 12, pp. 2407-2412.
140. **Mills, J. S. and White, R.** Natural Resins of Art and Archaeology, their Sources, Chemistry and Identification. *Studies in Conservation*. 1977, Vol. 22, pp. 12-31.
141. **Sharma, S. K., Shukla, S. K. and Vaid, D. N.** Shellac-Structure, Characteristics & Modification. *Defence Science Journal*. 1983, Vol. 33, pp. 261-271.
142. **Boar, R. B., Couchman, L. A., Jaques, A. J. and Perkins, M. J.** Isolation from Pistacia Resins of a Bicyclic Triterpenoid Representing an Apparent Trapped Intermediate of Squalene 2,3-Epoxyde Cyclization. *Journal of the American Chemical Society*. 1984, Vol. 106, pp. 2476-2477.
143. **De la Rie, E. R.** Photochemical and Thermal Degradation of Films of Dammar Resin. *Studies in Conservation*. 1988, Vol. 33, pp. 53-70.
144. **Papageorgiou, V. P., Mellidis, A. S. and Argyriadou, N.** The Chemical Composition of the Essential Oil of Mastic Gum. *Journal of Essential Oil Research*. 1991, Vol. 3, pp. 107-110.
145. **Anderson, K. B. and Winans, R. E.** Nature and Fate of Natural Resins in the Geosphere I. Evaluation of Pyrolysis-Gas Chromatography Mass-Spectrometry for the Analysis of Natural Resins and Resinites. *Analytical Chemistry*. 1991, Vol. 63, pp. 2901-2908.
146. **Anderson, K. B., Winans, R. E. and Botto, R. E.** The Nature and Fate of Natural Resins in the Geosphere-II. Identification, Classification and Nomenclature of Resinites. *Organic Geochemistry*. 1992, Vol. 18, pp. 829-841.

147. **Papageorgiou, V. P., Bakola-Christianopoulou, M. N., Apazidou, K. K. and Psarros, E. E.** Gas-Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of the Acidic Triterpenic Fraction of Mastic Gum. *Journal of Chromatography A*. 1997, Vol. 769, pp. 263-273.
148. **Chiavari, G., Fabbri, D., Mazzeo, R., Bocchini, P. and Galletti, G. C.** Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Natural Resins Used for Artistic Objects. *Chromatographia*. 1995, Vol. 41, pp. 173-281.
149. **Hanson, J. R.** Diterpenoids. *Natural Product Reports*. 1996, Vol. 13, pp. 59-71.
150. **Grayson, D. H.** Monoterpenoids. *Natural Products Reports*. 2000, Vol. 17, pp. 385-419.
151. **Brody, R. H., Edwards, H. G. M. and Pollard, A. M.** A Study of Amber and Copal Samples Using FT-Raman Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*. 2001, Vol. 57, pp. 1325-1338.
152. **Keeling, C., J. and Bohlmann, J.** Diterpene Resin Acids in Conifers. *Phytochemistry*. 2006, Vol. 67, pp. 2415-2423.
153. **Stacey, R. J., Cartwright, C. R., and McEwan, C.** Chemical Characterization of Ancient Mesoamerican 'Copal' Resins: Preliminary Results. *Archaeometry*. 2006, Vol. 48, pp. 323-340.
154. **Tulloch, A. P.** Factors Affecting Analytical Values of Beeswax and Detection of Adulteration. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1973, Vol. 50, pp. 269-272.
155. **Regert, M., Langlois, J. and Colinart, S.** Characterisation of Wax Works of Art by Gas Chromatographic Procedures. *Journal of Chromatography A*. 2005, Vol. 1091, pp. 124-136.
156. **Van den Berg, K. J., Boon, J. J., Pastorova, I. and Spetter, L. F. M.** Mass spectrometric methodology for the analysis of highly oxidized diterpenoid acids in Old Master paintings. *Journal of Mass Spectrometry*. 2000, Vol. 35, pp. 512-533.
157. **Scalarone, D., Lazzari, M. and Chiantore, O.** Ageing Behaviour and Analytical Pyrolysis Characterisation of Diterpenic Resins Used as Art Materials: Manila Copal and Sandarac. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2003, Vols. 68-69, pp. 115-136.
158. **Van den Berg, K. J., Van der Horst, J., Boon, J. J. and Sudmeijer, O. O.** Cis-1,4-poly- β -myrcene; the Structure of the Polymeric Fraction of Mastic Resin (*Pistacia lentus* L.) Elucidated. *Tetrahedron Letters*. 1998, Vol. 39, pp. 2645-2648.
159. **Newmark, R. A. and Majumdar, R. N.** ¹³C-NMR Spectra of cis-polymyrcene and cis-polyfarnesene. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*. 1988, Vol. 26, pp. 71-77.

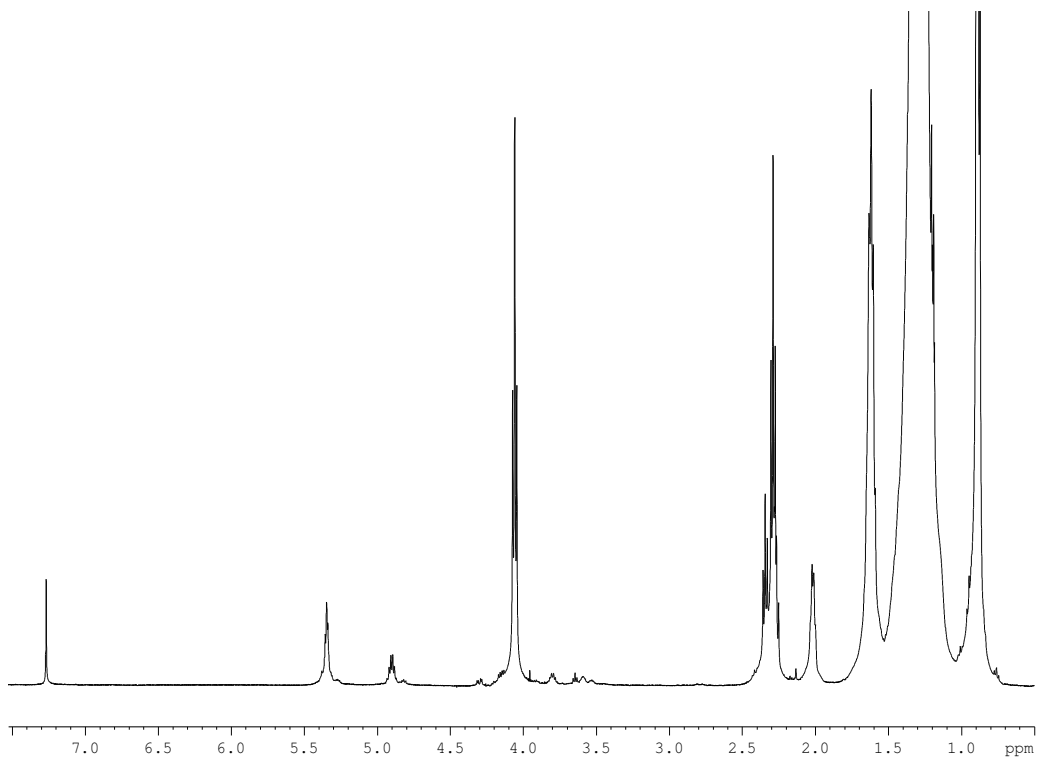
160. **Pastorova, I., Van der Berg, K.J., Boon, J.J. and Verhoeven, J.W.** Analysis of Oxidised Diterpenoid Acids Using Thermally Assisted Methylation with TMAH. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 1997, Vol. 43, pp. 41–57.
161. **Van den Berg, K., J., Van der Horst, J., Boon, J. J., Shibayama, N. and De la Rie, E. R.** Mass Spectrometry as a Tool to Study Ageing Processes of Diterpenoid Resins in Works of Art: GC- and LC-MS Studies. [ed.] E., J., Hesso, A. E., Jalonen, J. E. and Karjalainen, U. P. Karjalainen. *Advances in Mass Spectrometry: Proceedings of the International Mass Spectrometry Conference*. Tampere, Finland : s.n., 1998, Vol. 14, pp. 563-573.
162. **Van den Berg, K. J., and Boon, J. J.** Recognition of Copals in Aged Resin/Oil Paints and Varnishes. *ICOM Committee for Conservation*. 1999, Vol. II, pp. 855–861.
163. **Van der Doelen, G. A. and Boon J. J.** Artificial Ageing of Varnish Triterpenoids in Solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2000, Vol. 134, pp. 45–57.
164. **Dietemann, P., Edelmann, M.J., Meisterhans, C., Pfeiffer, C., Zumbuhl, S., Knochenmuss, R. and Zenobi, R.** Artificial Photoaging of Triterpenes Studied by Graphite-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Helvetica Chimica Acta*. 2000, Vol. 83, pp. 1766-1777.
165. **Stern, B., Heron, C., Corr, L., Serpico, M., and Bourriau, J.** Compositional Variation in Aged and Heat Treated Pistacia Resin Found in Late Bronze Age Canaanite Amphorae and Bowls from Amarna, Egypt. *Archaeometry*. 2003, Vol. 45, pp. 457–469.
166. **Scalarone, D., Duursma, M. C., Boon, J., J. and Chiantore, O.** MALDI-TOF Mass Spectrometry on Cellulosic Surfaces of Fresh and Photo-Aged Di- and Triterpenoid Varnish Resins. *Journal of Mass Spectrometry*. 2005, Vol. 40, pp. 1527–1535.
167. **Theodorakopoulos, C., Zafiropulos, V., Boon, J., J. and Boyatzis, S. C.** Spectroscopic Investigations on the Depth-Dependent Degradation Gradients of Aged Triterpenoid Varnishes. *Applied Spectroscopy*. 2007, Vol. 61, pp. 1045-1051.
168. **Dietemann, P., Higgitt, C., Kalin, M., Edelmann, M. J., Knochenmuss, R., and Zenobi, R.** Aging and Yellowing of Triterpenoid Resin Varnishes - Influence of Aging Conditions and Resin Composition. *Journal of Cultural Heritage*. 2009, Vol. 10, pp. 30-40.
169. **Leach, E. W.** *The Social Life of Painting in Ancient Rome and on the Bay of Naples*. Cambridge : Cambridge University Press, 2004.
170. **Stassinopoulos, S.** The Baptism of Christ by Domenikos Theotokopoulos: Description - Condition – Conservation. *Mouseio Benaki*. 2006, Vol. 5, pp. 71-85.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

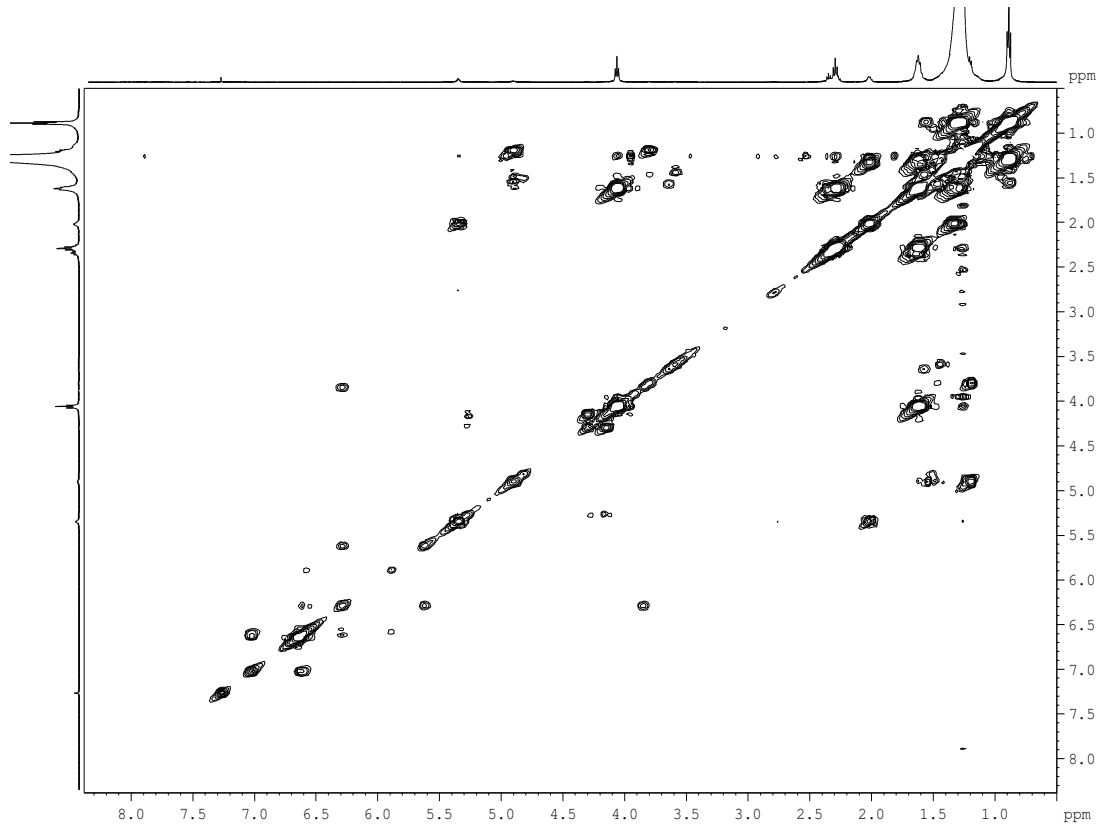
Φάσματα NMR Κηρού Μέλισσας



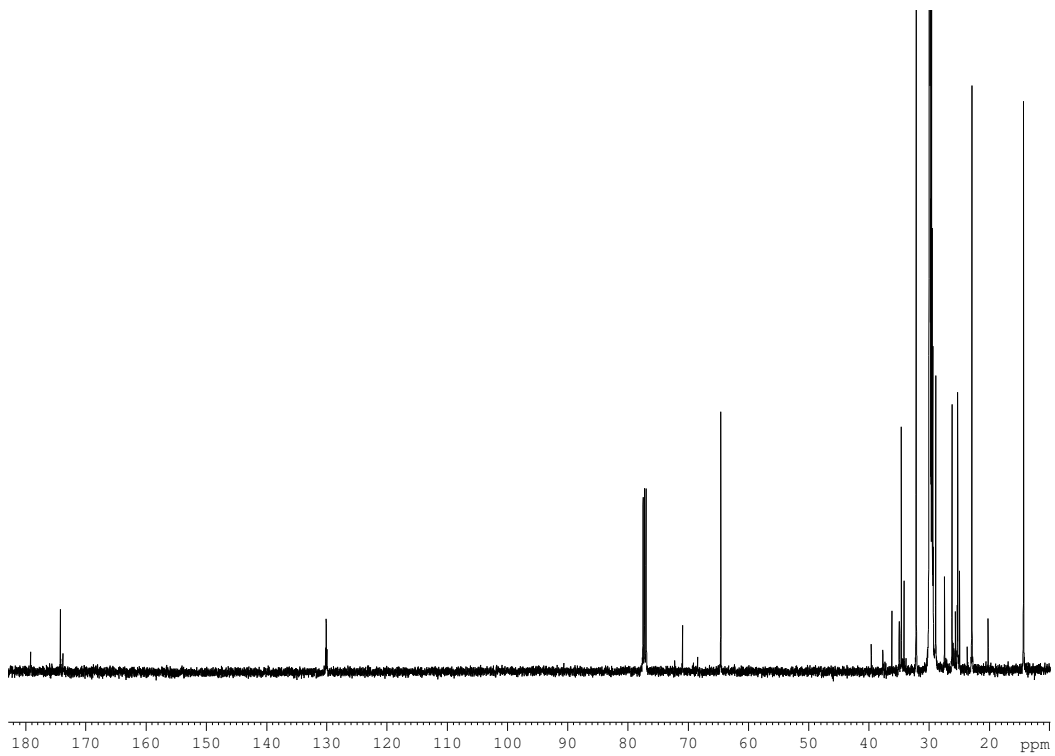
Φάσμα ^1H NMR κηρού μέλισσας (δείγμα 1) σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



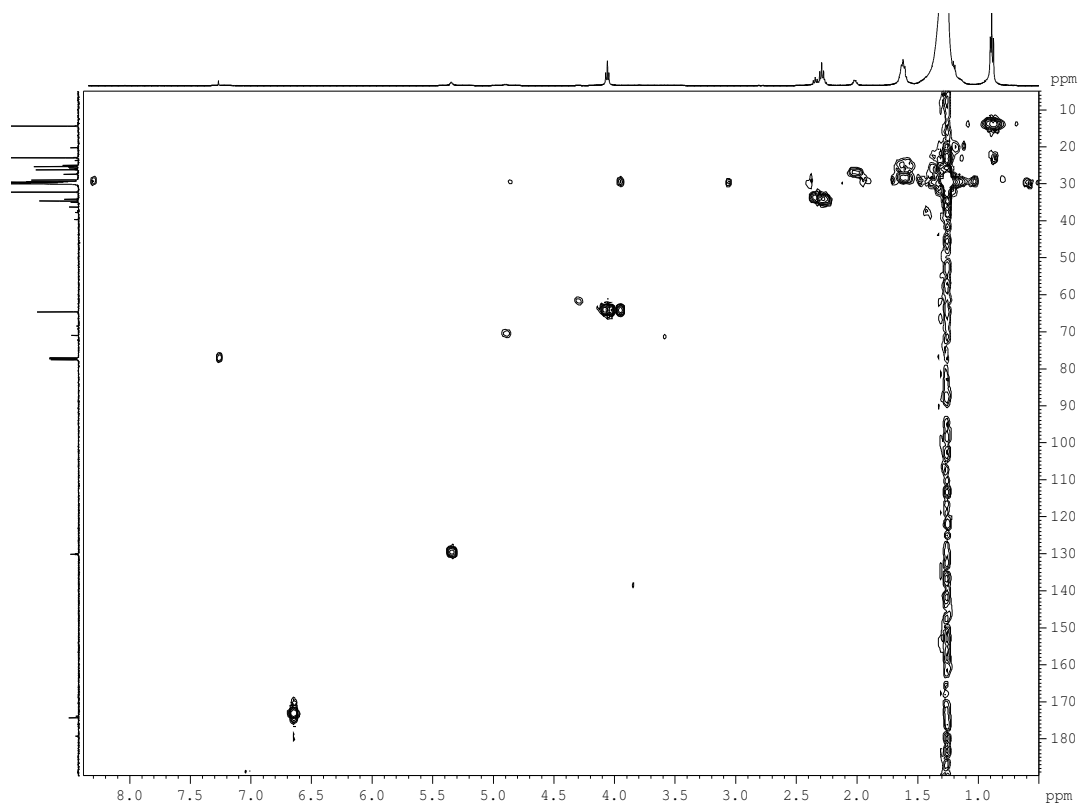
Φάσμα ^1H NMR κηρού μέλισσας (δείγμα 2) σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



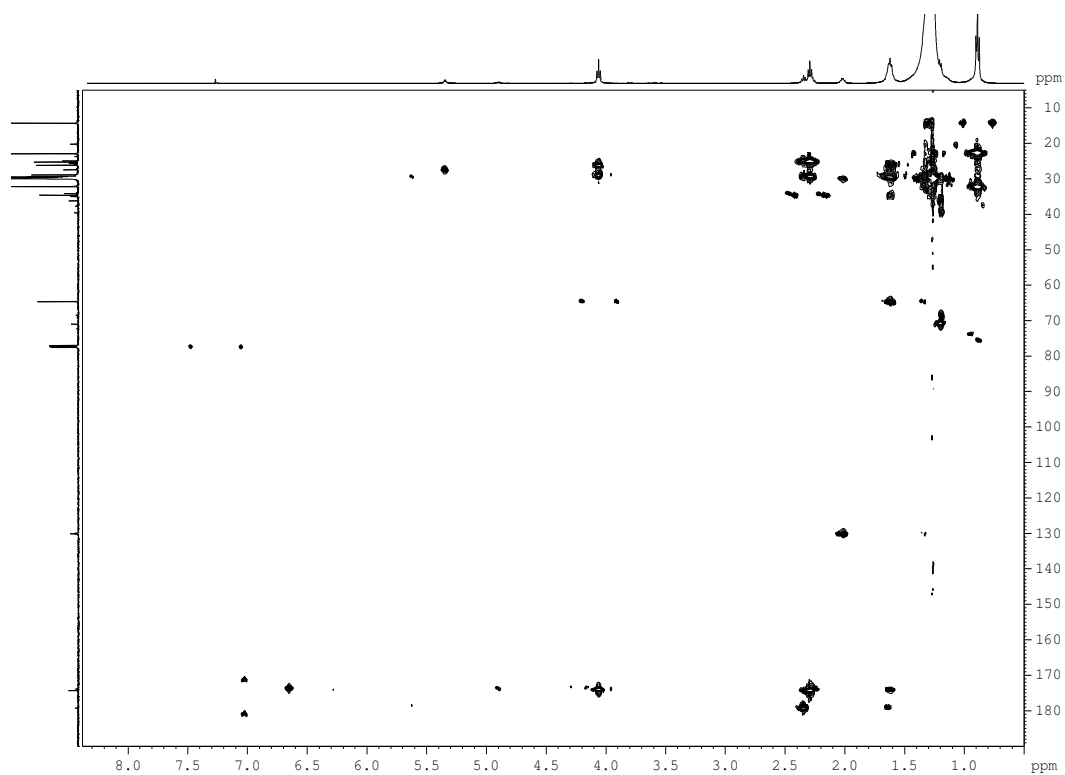
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3 (δείγμα 2)



Φάσμα ^{13}C NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3 (δείγμα 2)

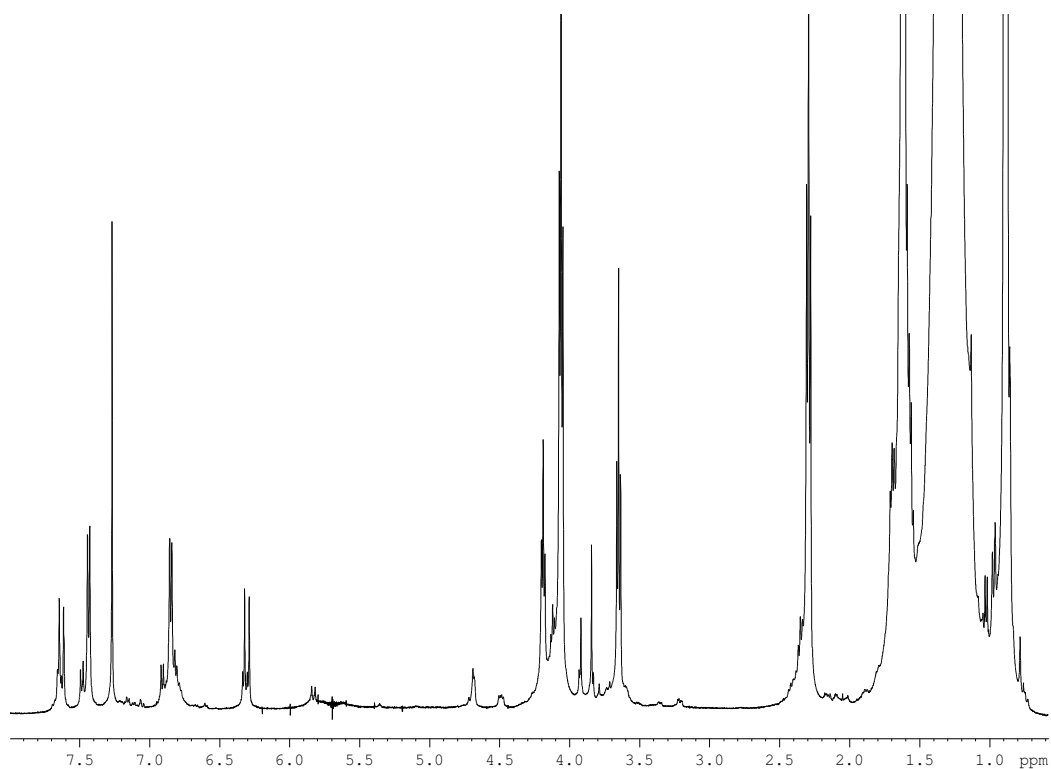


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3 (δείγμα 2)

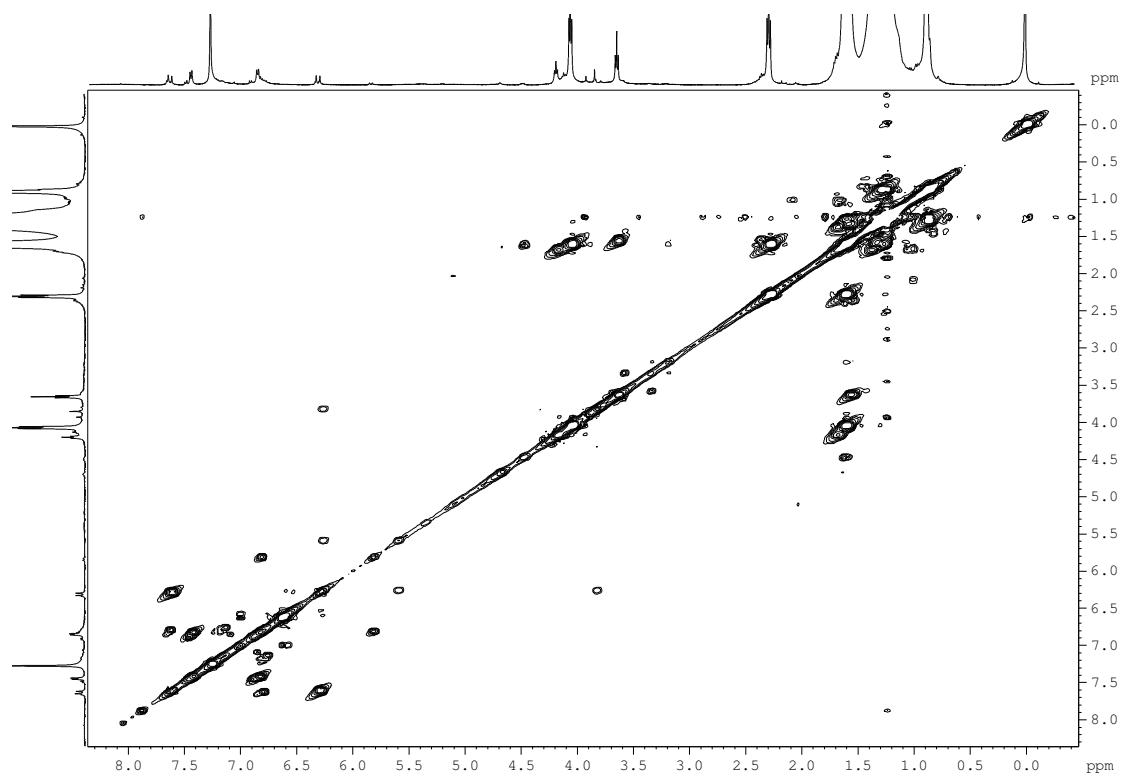


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού μέλισσας σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3 (δείγμα 2)

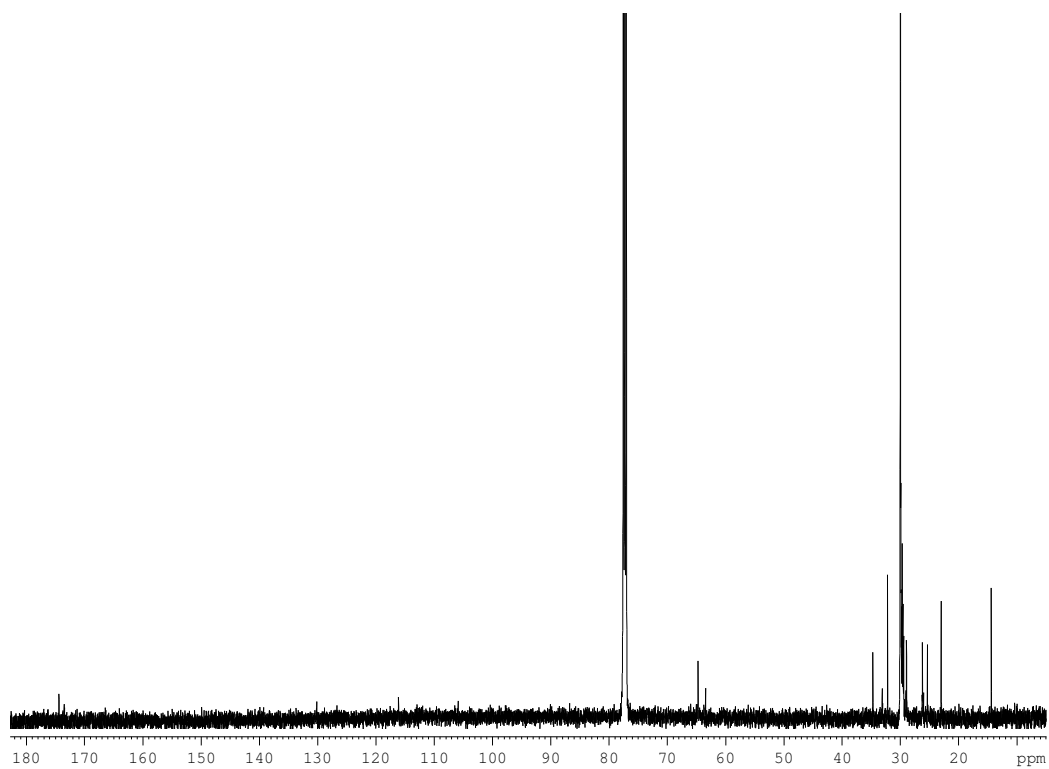
Φάσματα NMR Κηρού Καρνάουμπα



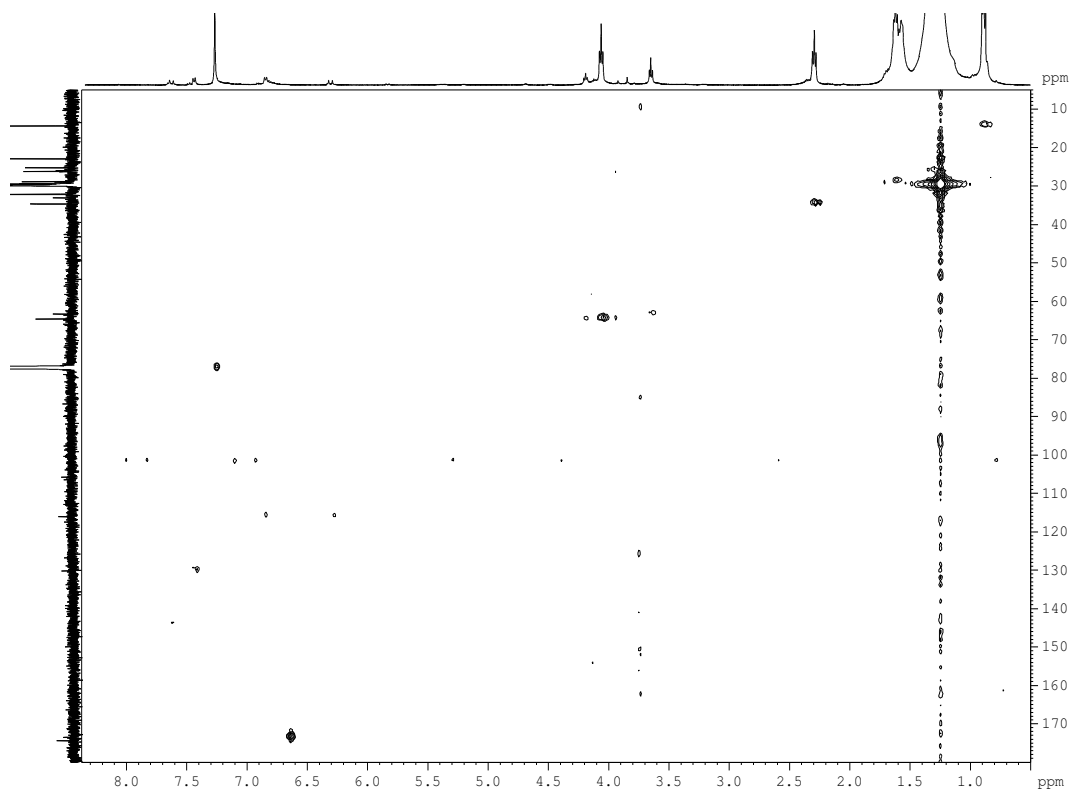
Φάσμα ^1H NMR κηρού καρνάουπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



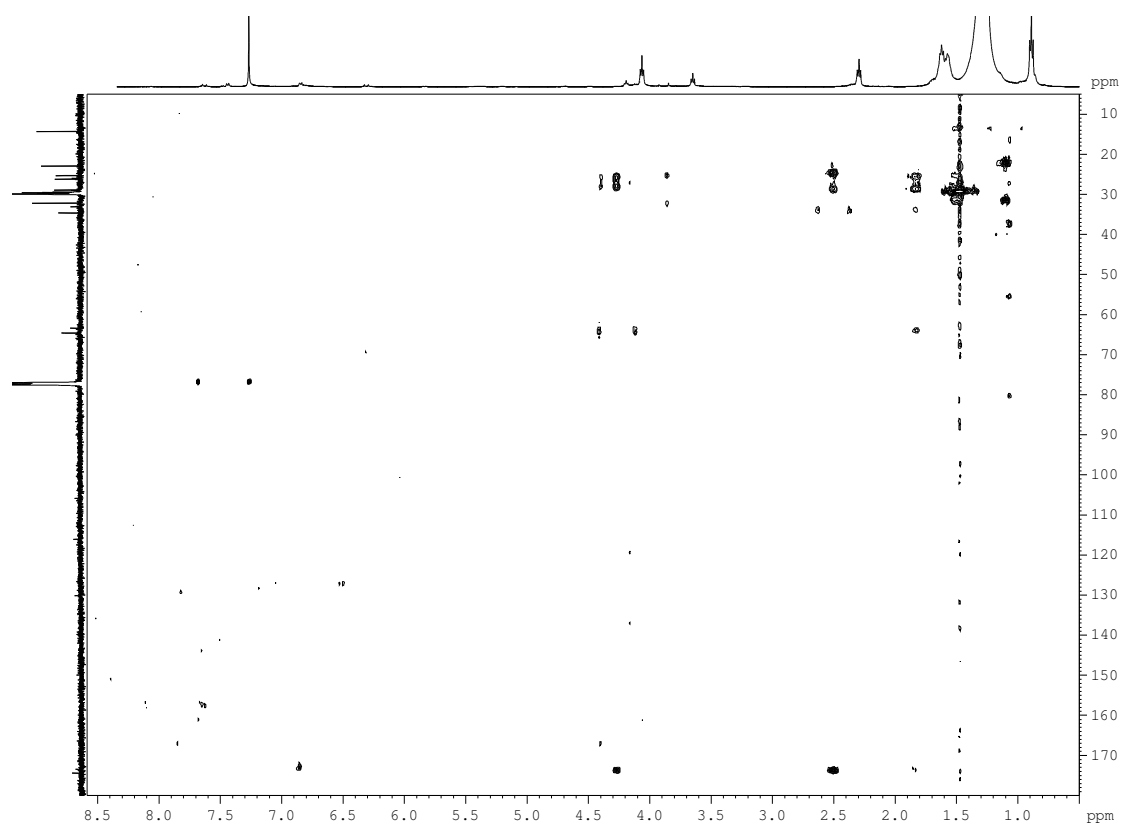
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καρνάουπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

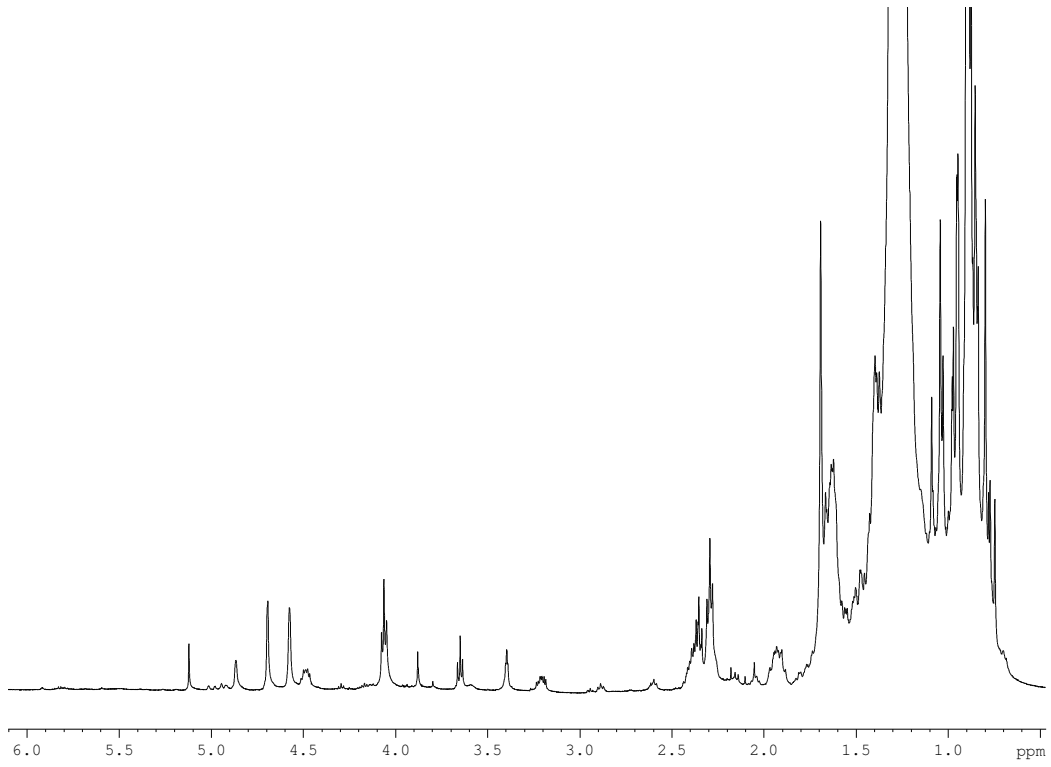


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κηρού καρνάουμπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

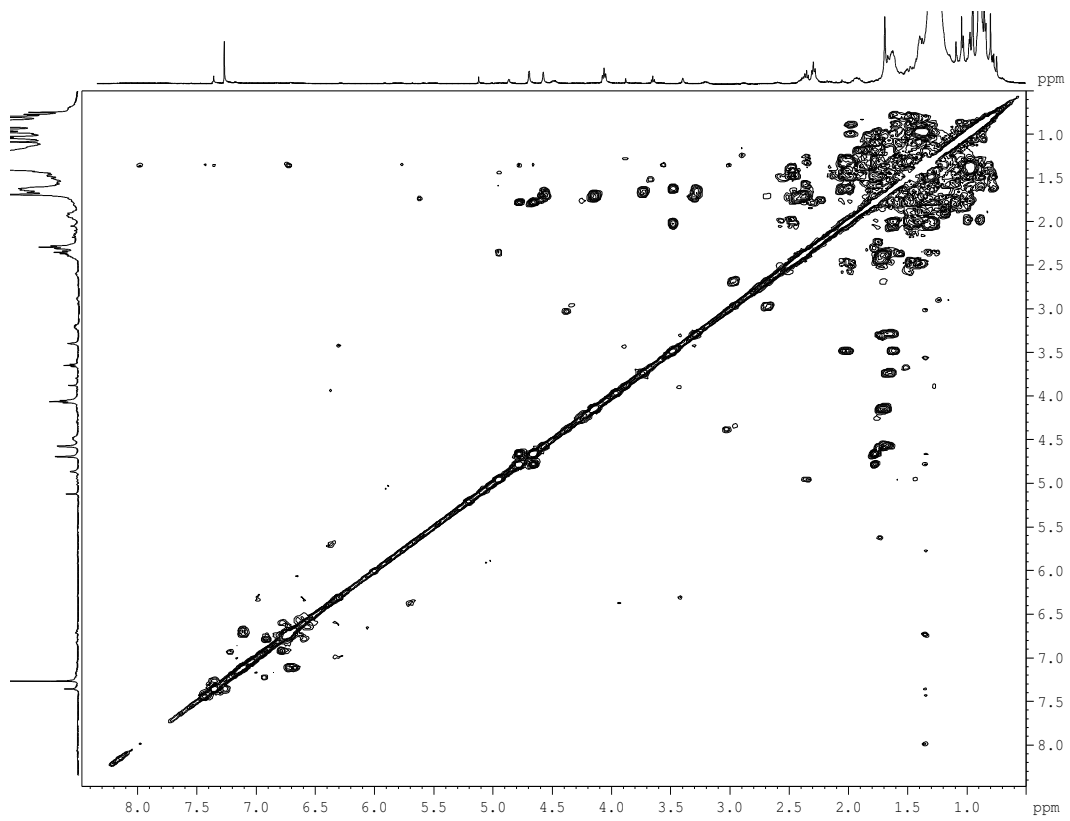


Φάσμα ¹H-¹³C gHMBC 2D NMR κηρού καρνάουπα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl₃

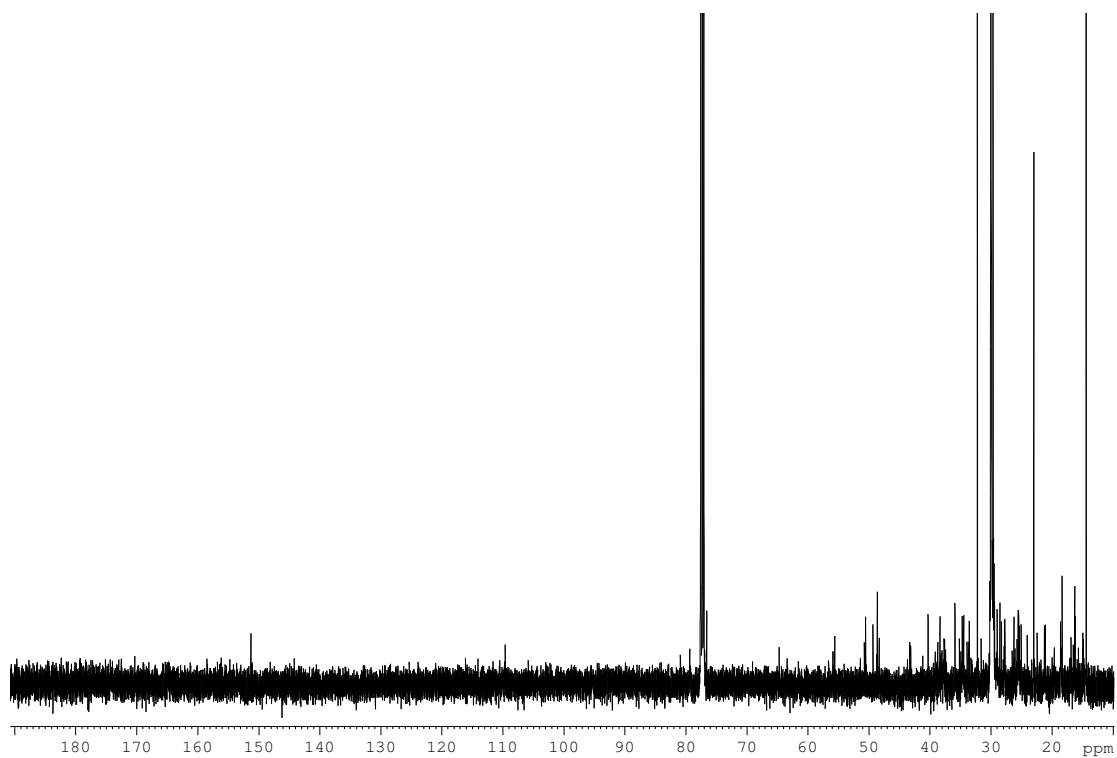
Φάσματα NMR Κηρού Καντέλιλλα



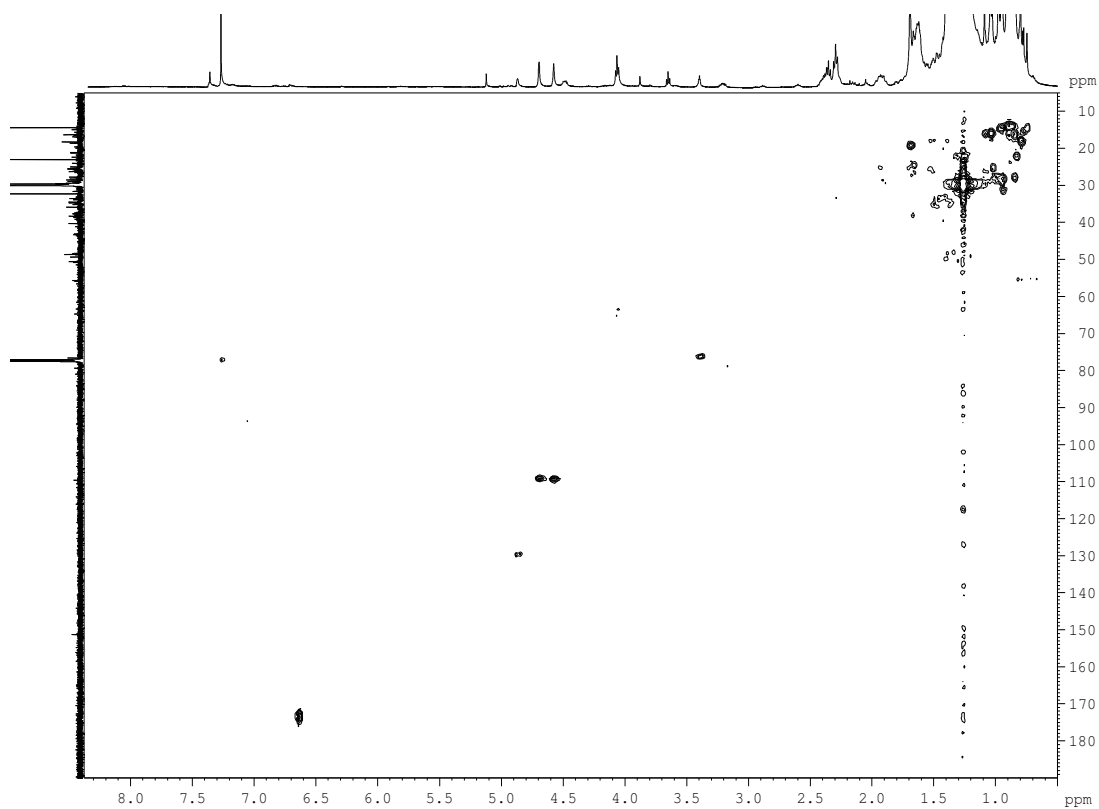
Φάσμα ^1H NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



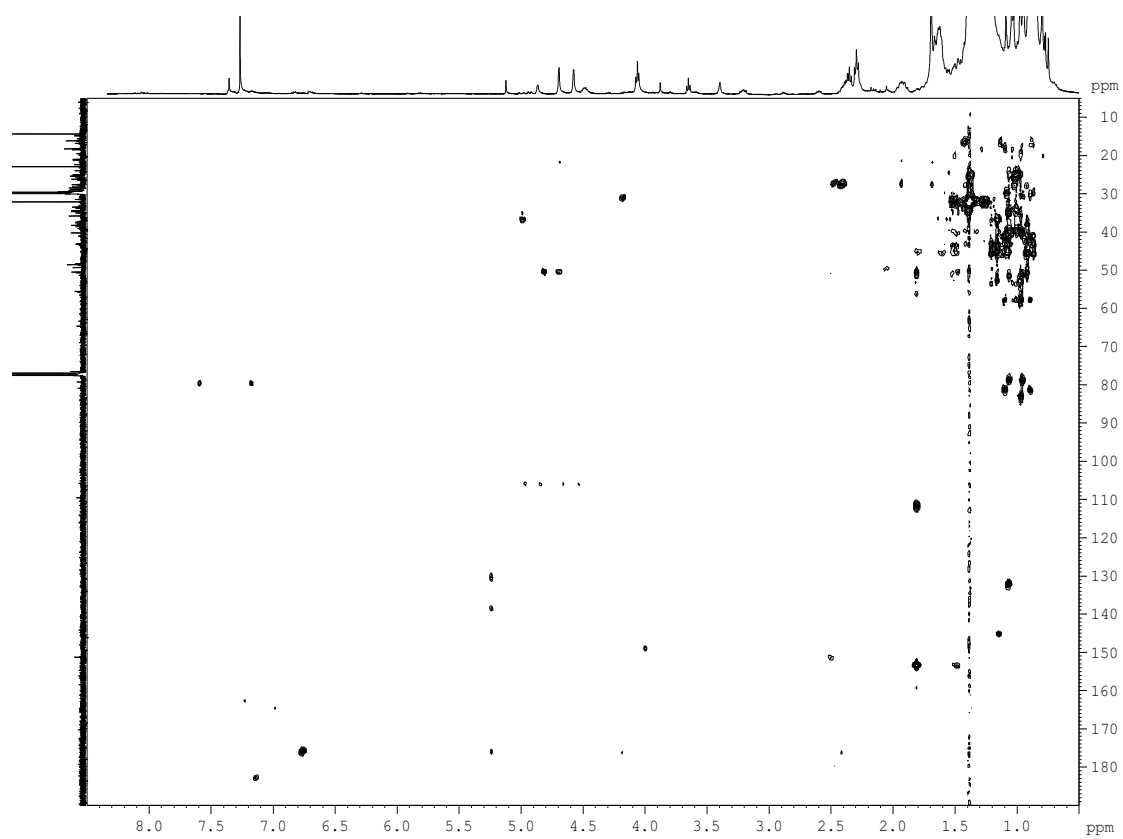
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



Φάσμα ^{13}C NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

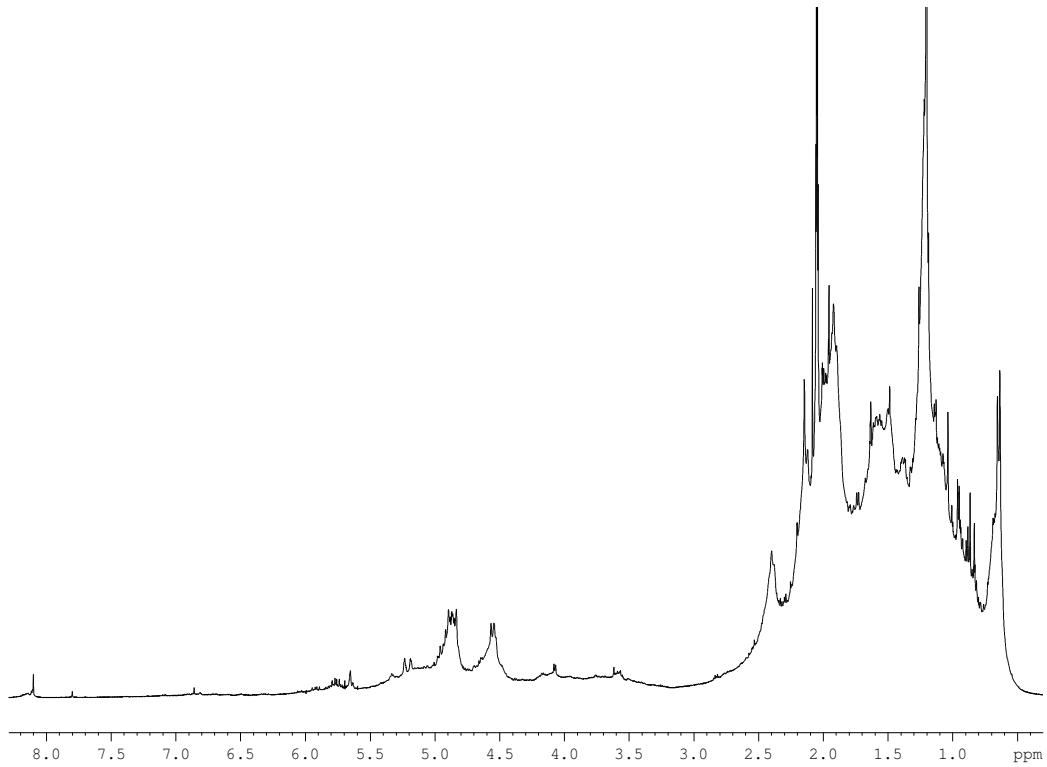


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

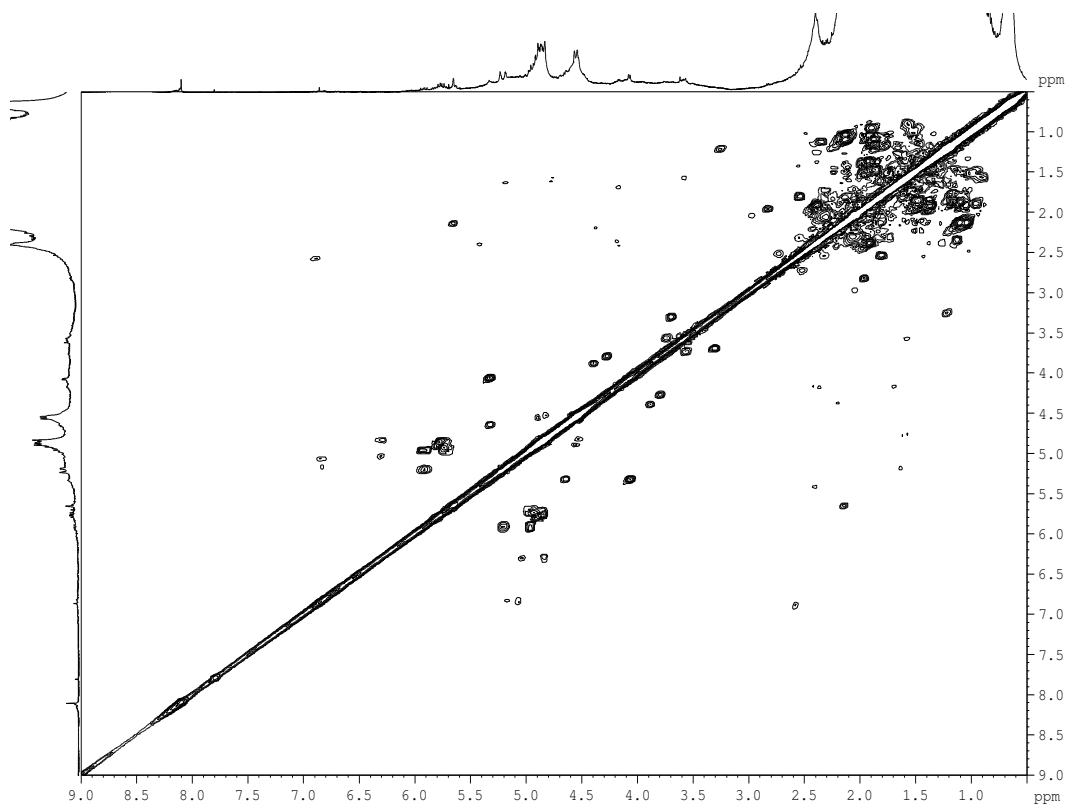


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κηρού καντέλιλλα σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

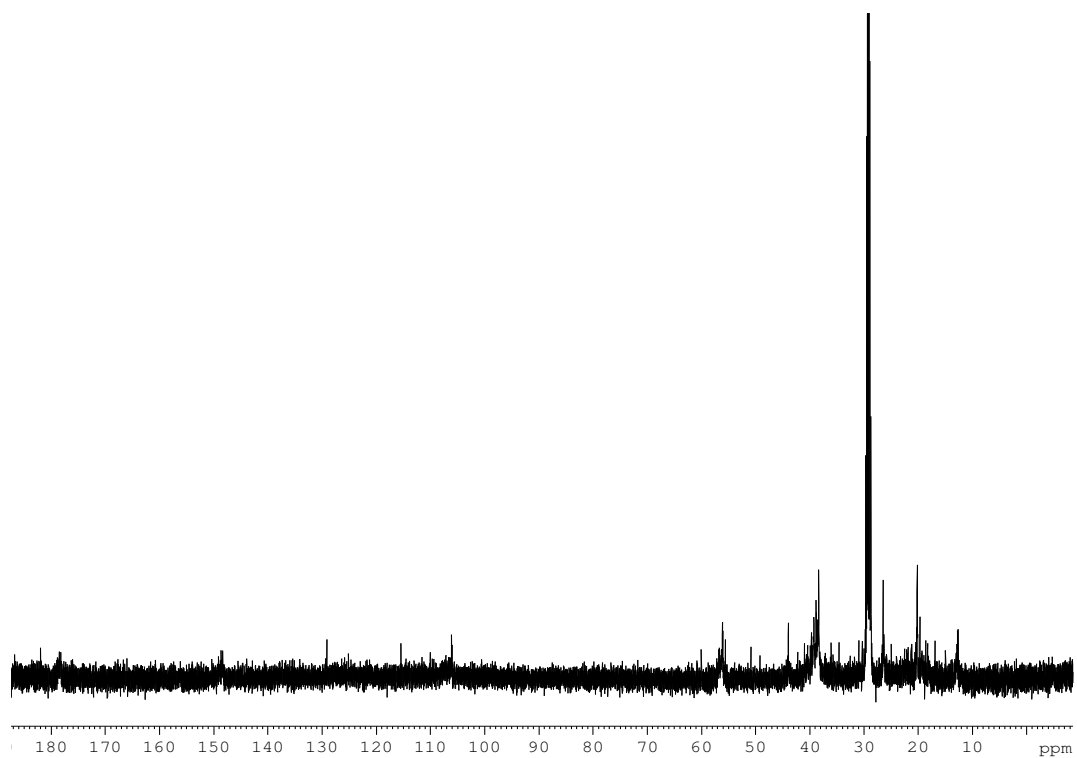
Φάσματα NMR της Διτερπενοειδούς Ρητίνης Σανδαράχη



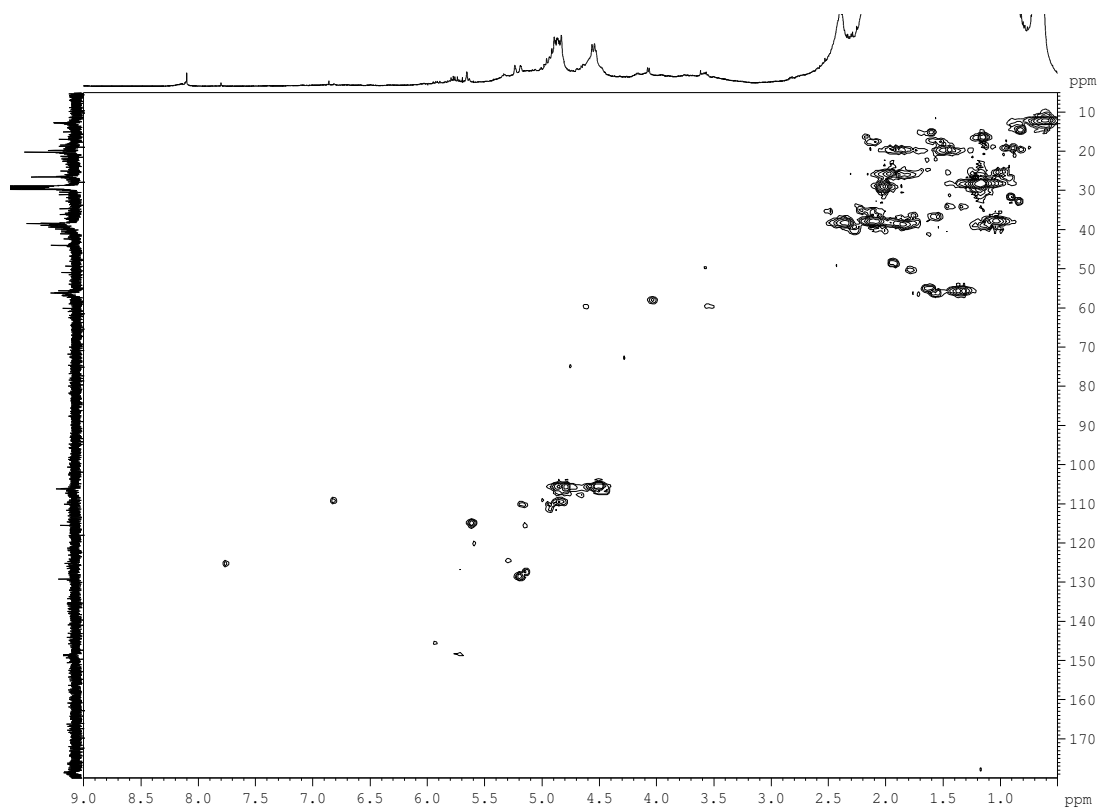
Φάσμα ^1H NMR σανδαράχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



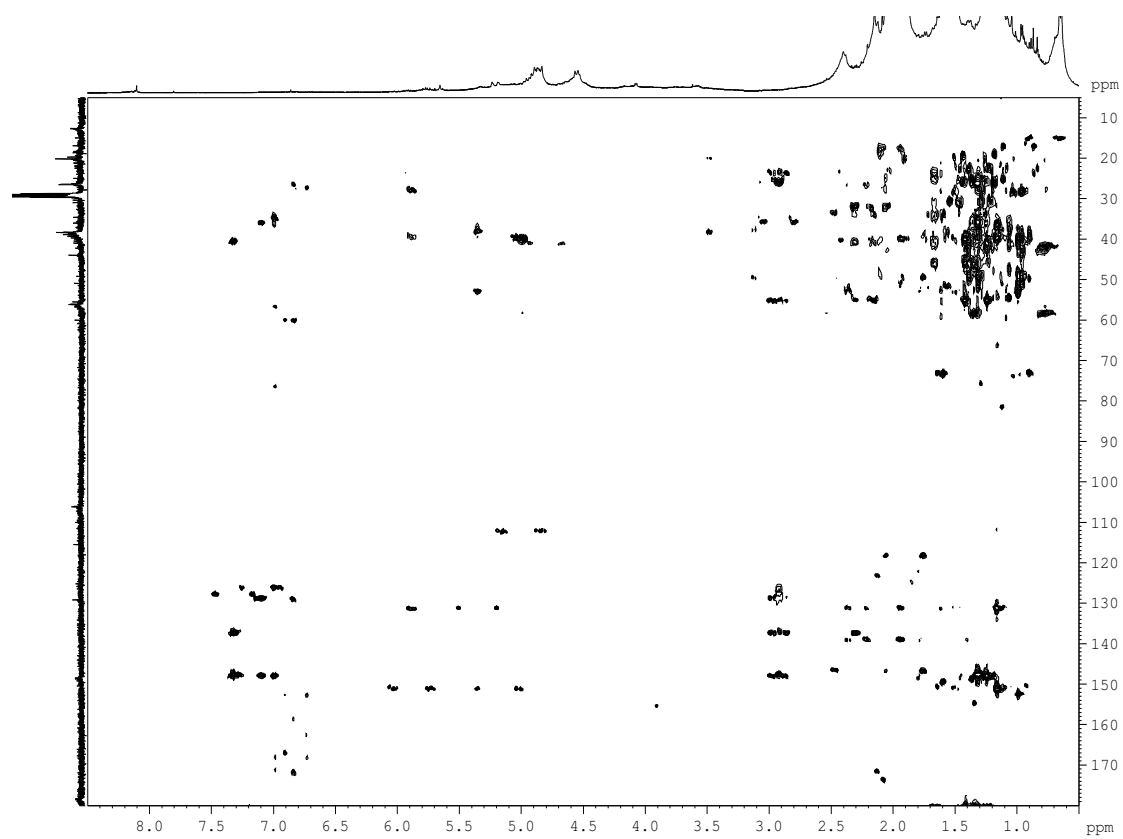
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR σανδαράχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Φάσμα ^{13}C NMR σανδαράχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

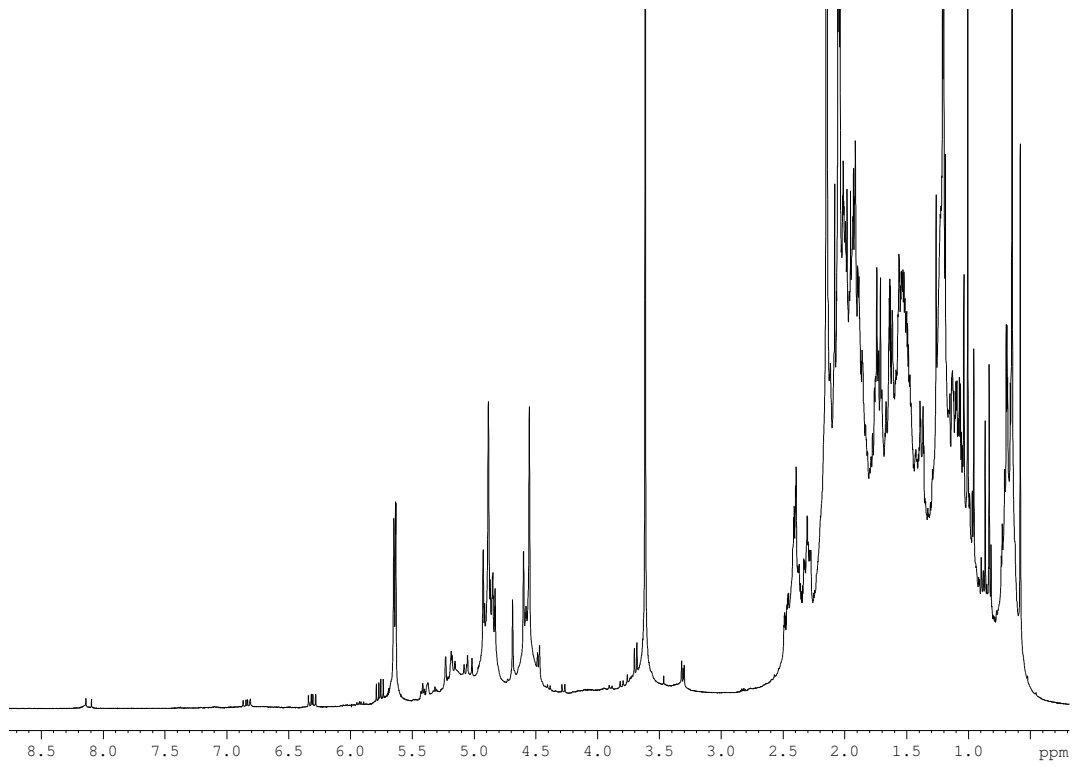


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR σανδαράχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

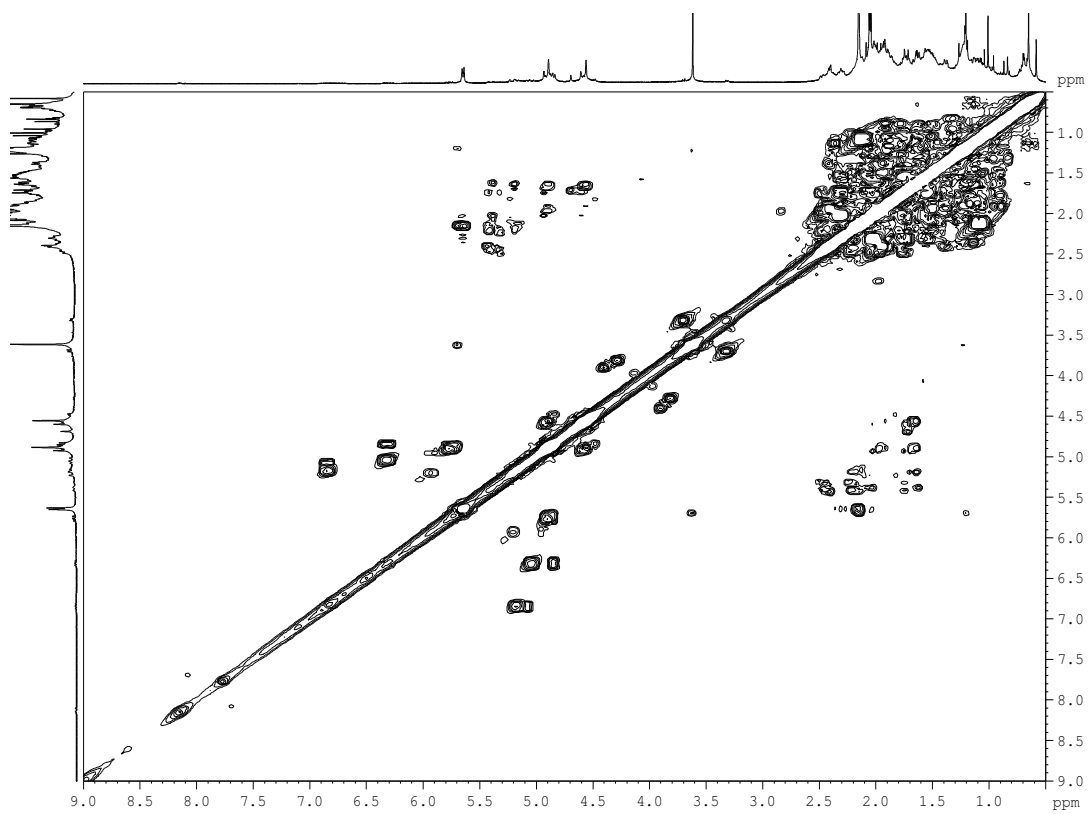


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR σανδαράχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

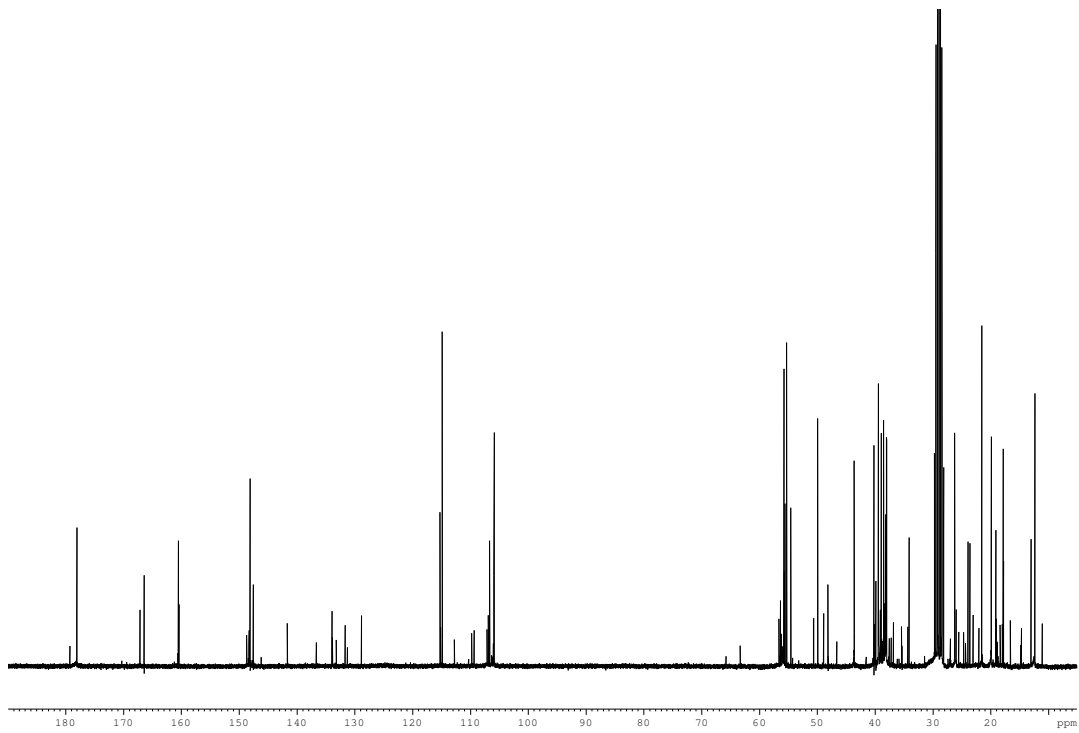
Φάσματα NMR της Διτερπενοειδούς Ρητίνης Κοπάλιο



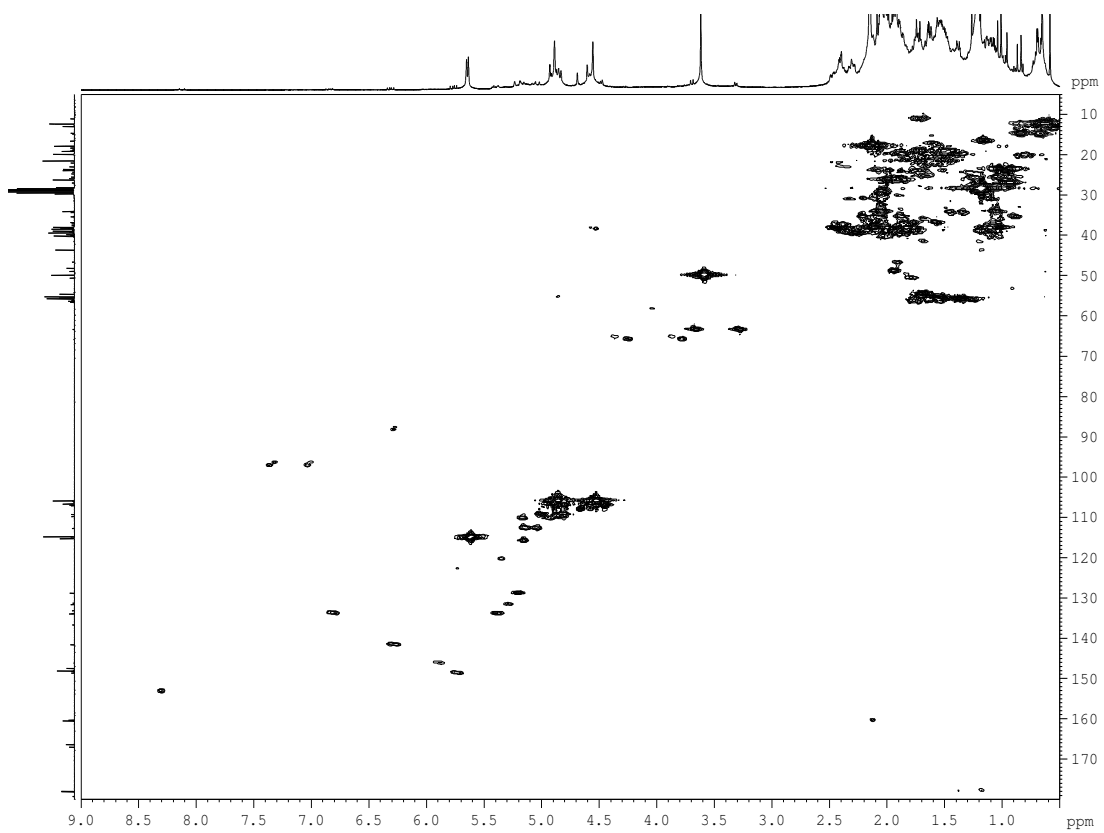
Φάσμα ^1H NMR κοπαλιού σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6



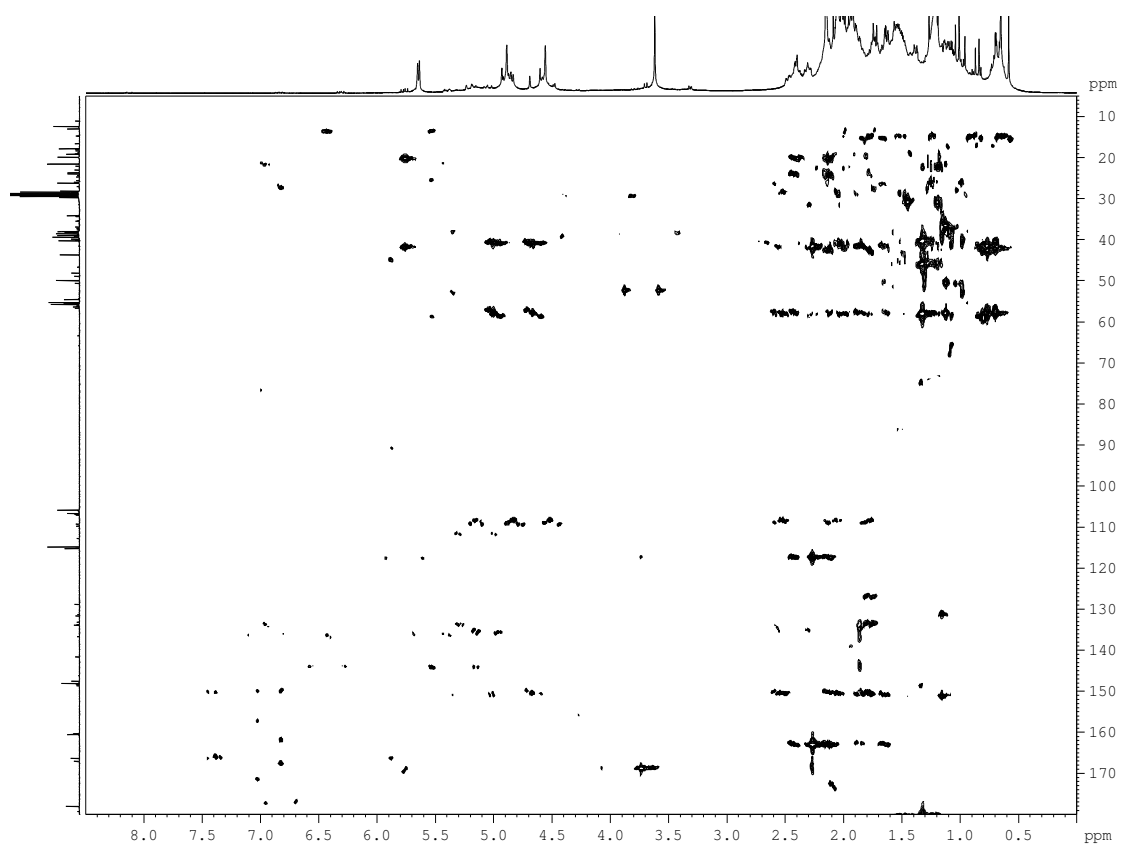
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR κοπαλιού σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6



Φάσμα ^{13}C NMR κοπαλίου σε δευτεριωμένη ακετόνη-d₆

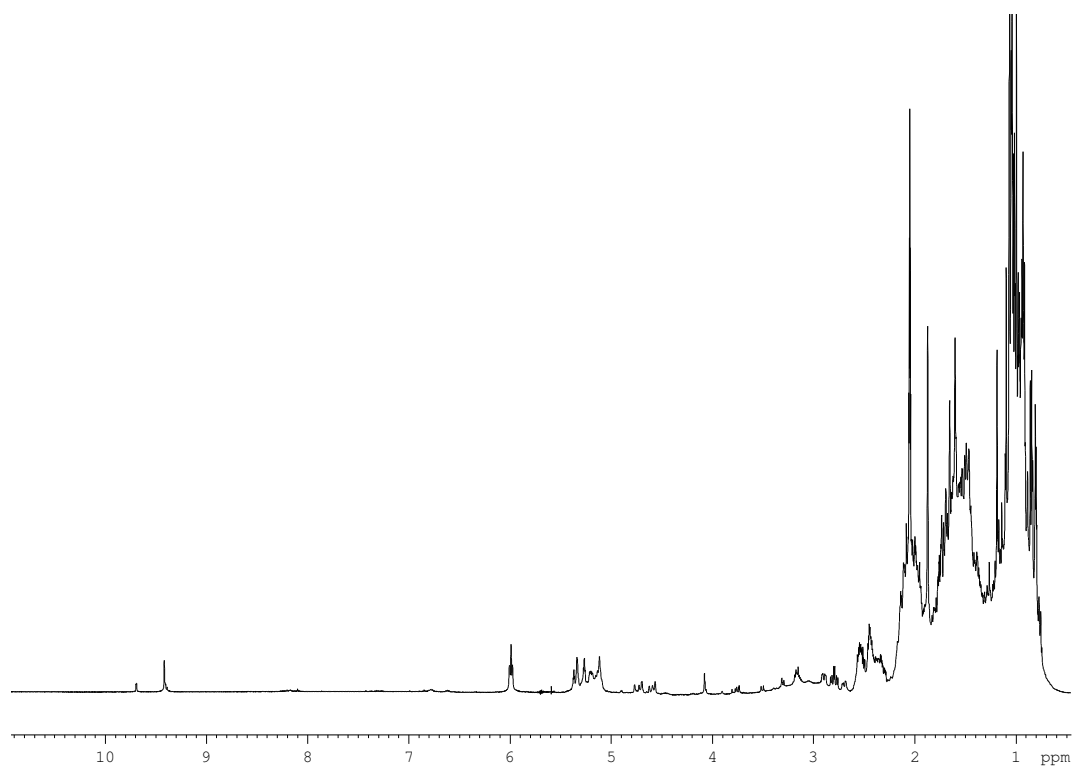


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR κοπαλίου σε δευτεριωμένη ακετόνη-d₆

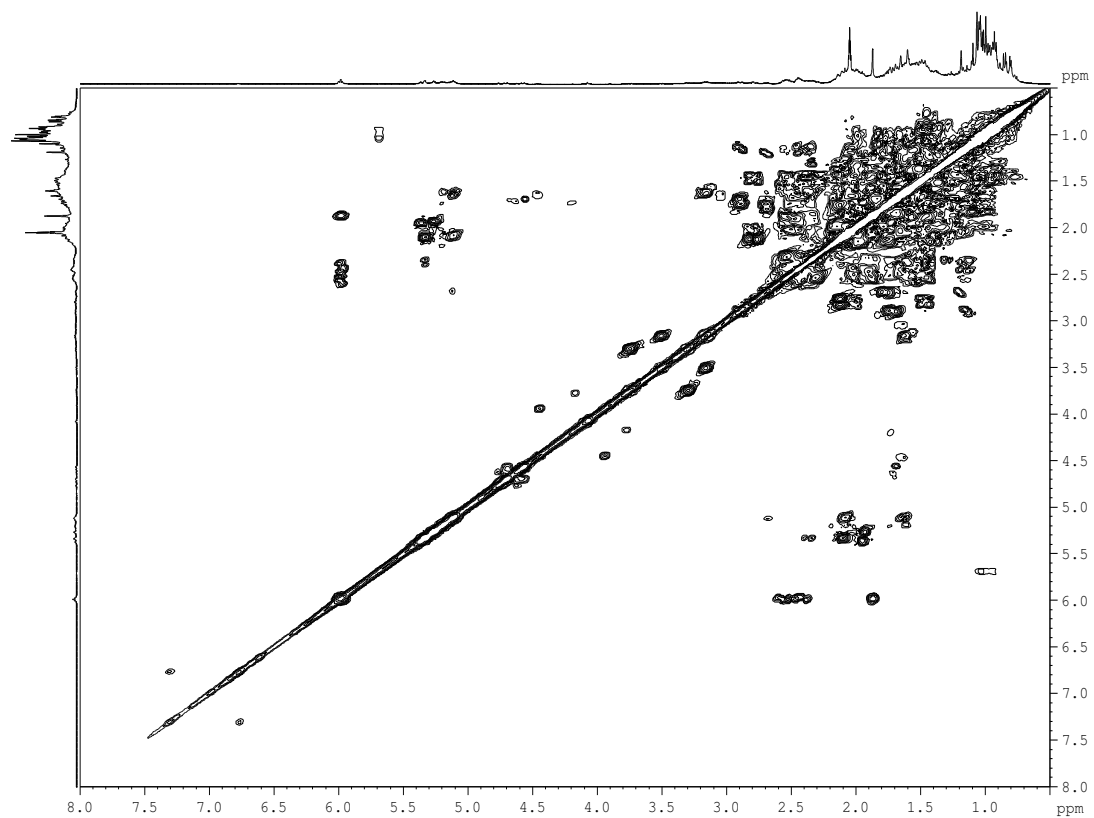


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR κοπαλίου σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

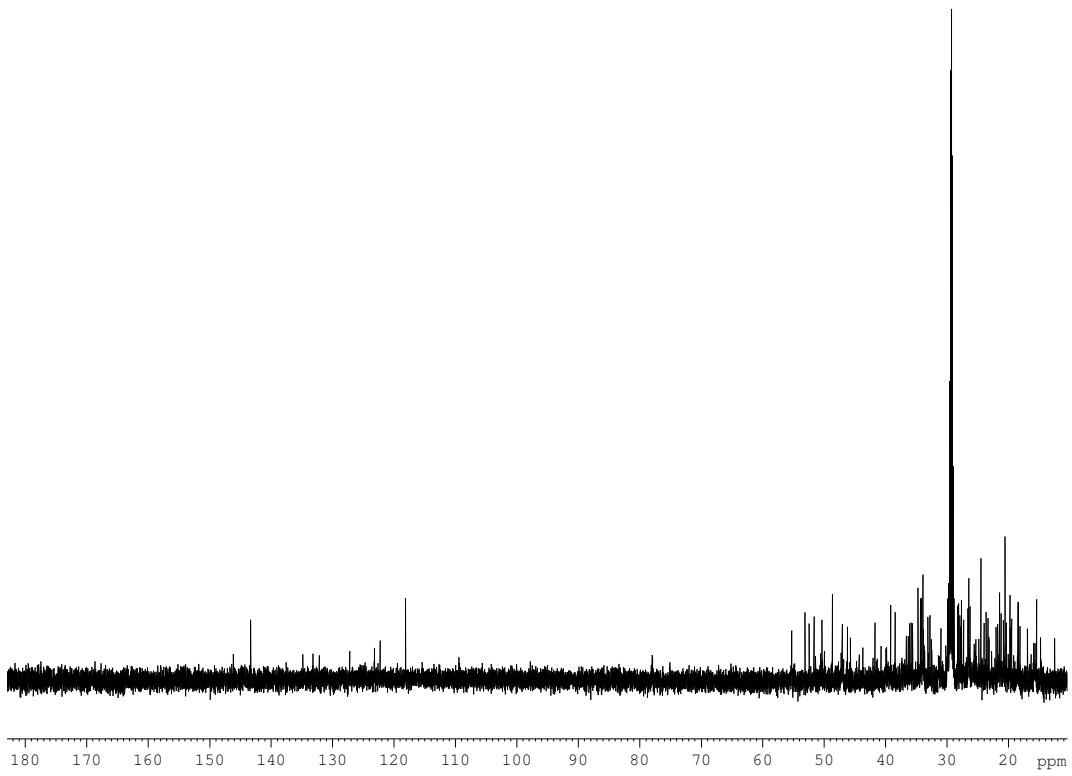
Φάσματα NMR της Τριτερπενοειδούς Ρητίνης Μαστίχη



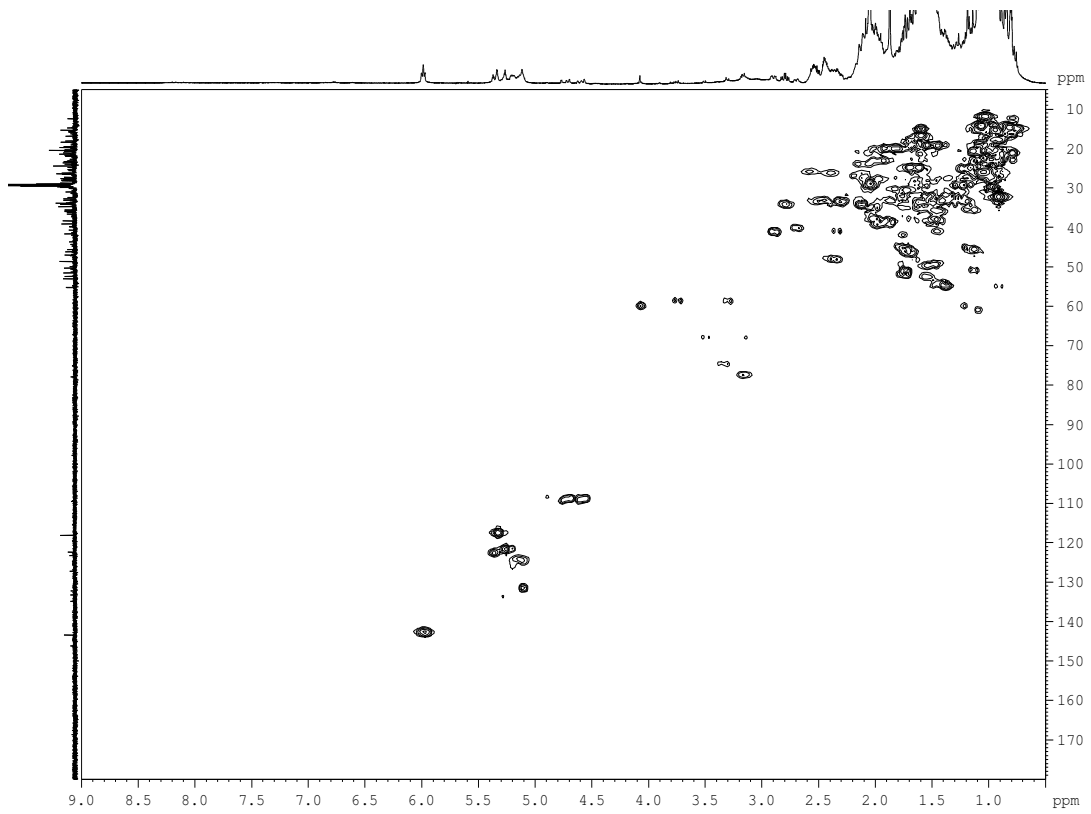
Φάσμα ^1H NMR μαστίχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



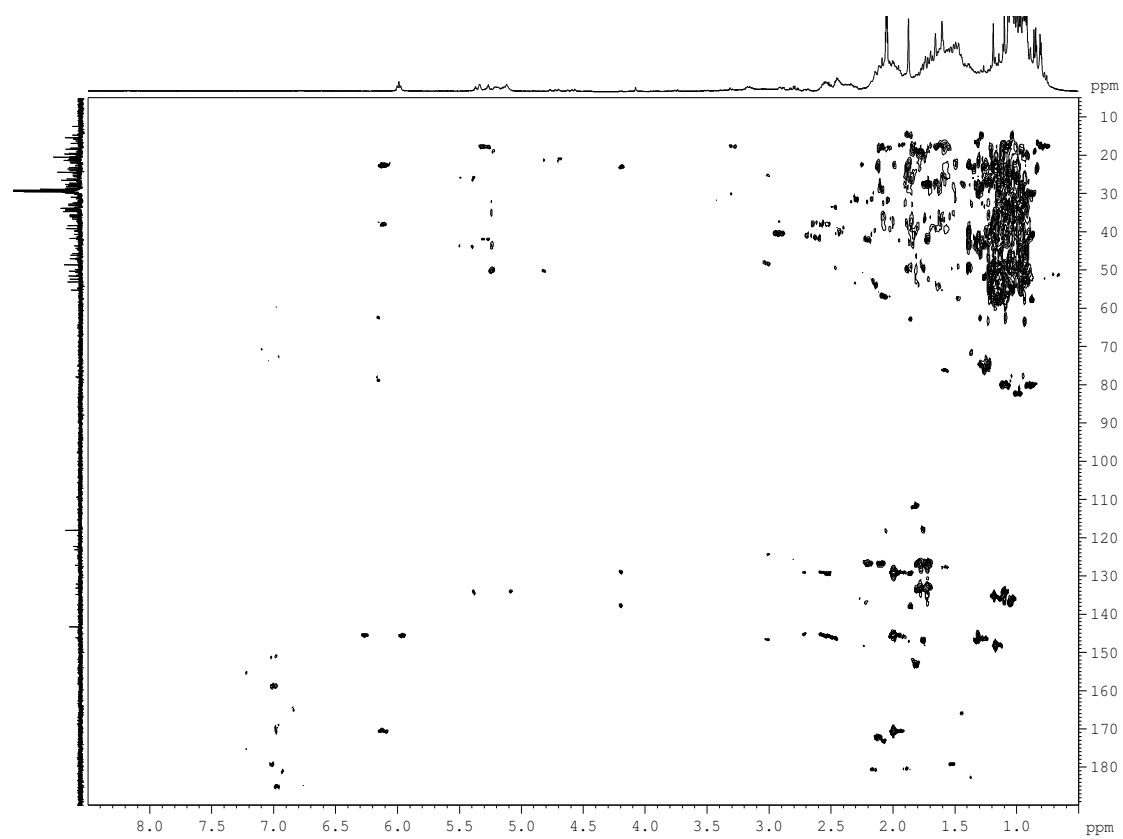
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR μαστίχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Φάσμα ^{13}C NMR μαστίγης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

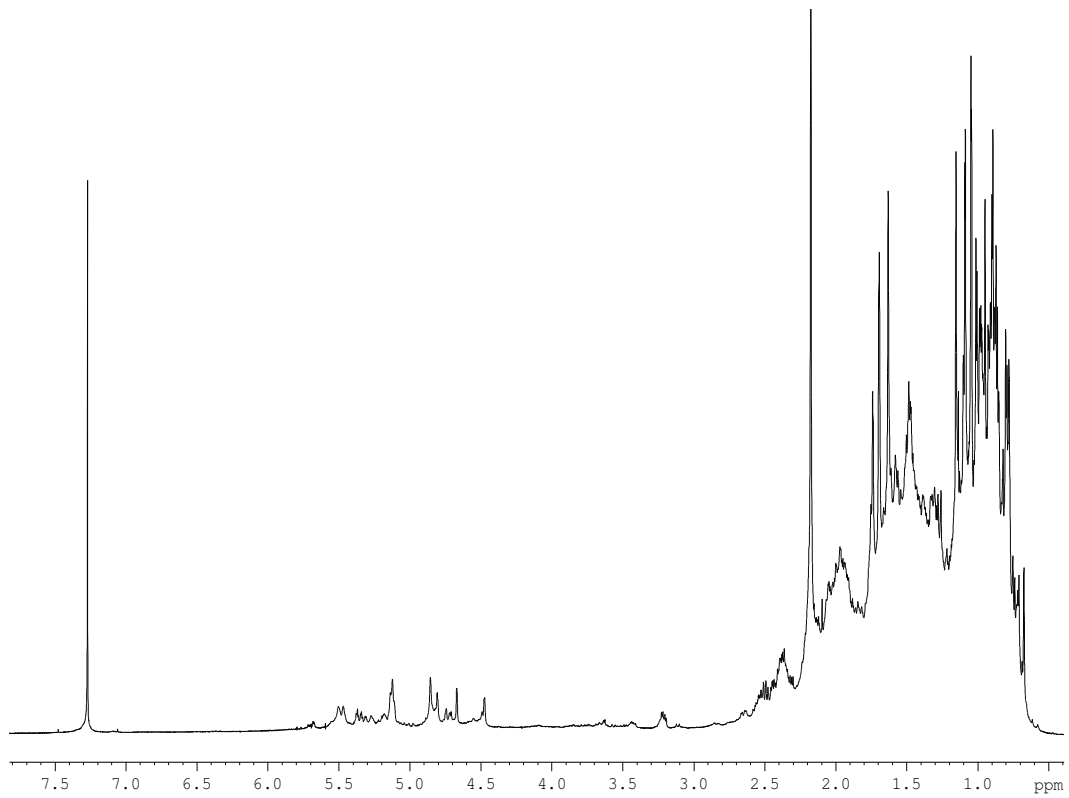


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR μαστίγης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

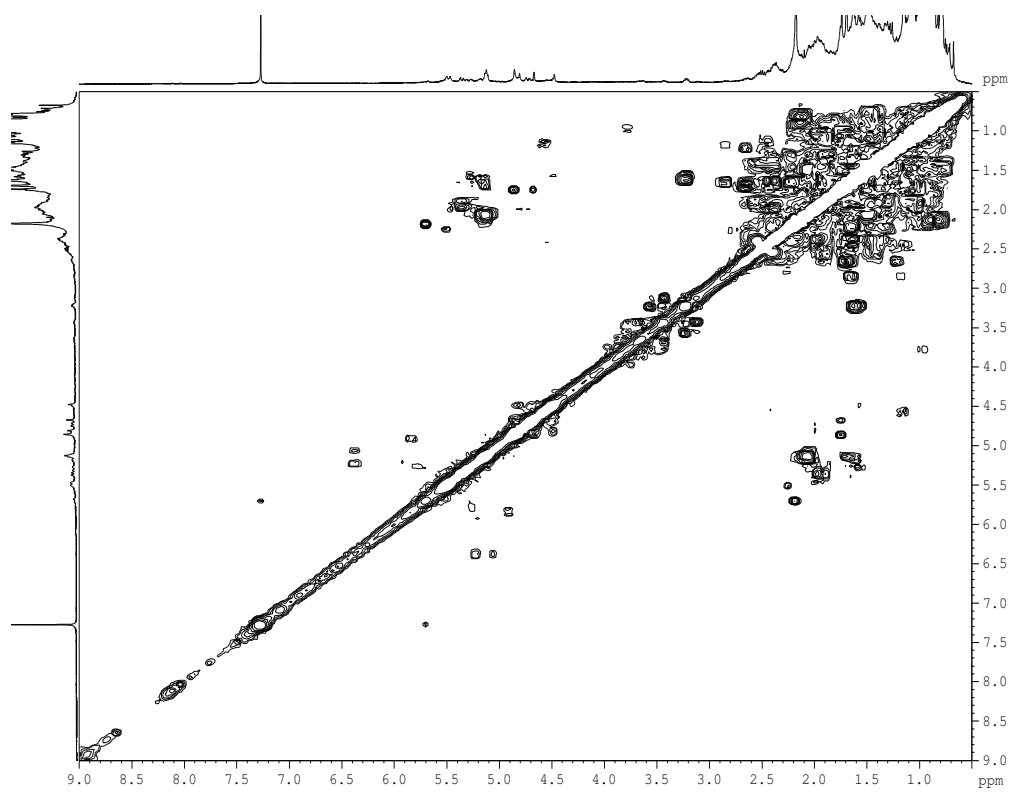


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR μαστίχης σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

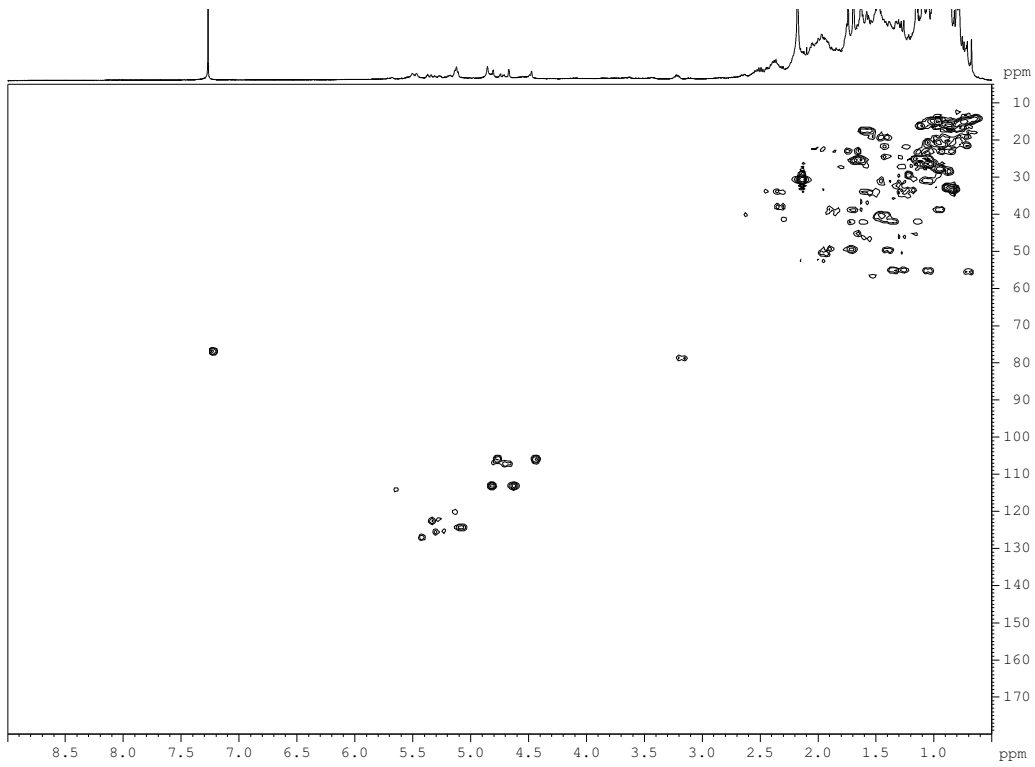
Φάσματα NMR της Τριτερπενοειδούς Ρητίνης Δάμμαρη



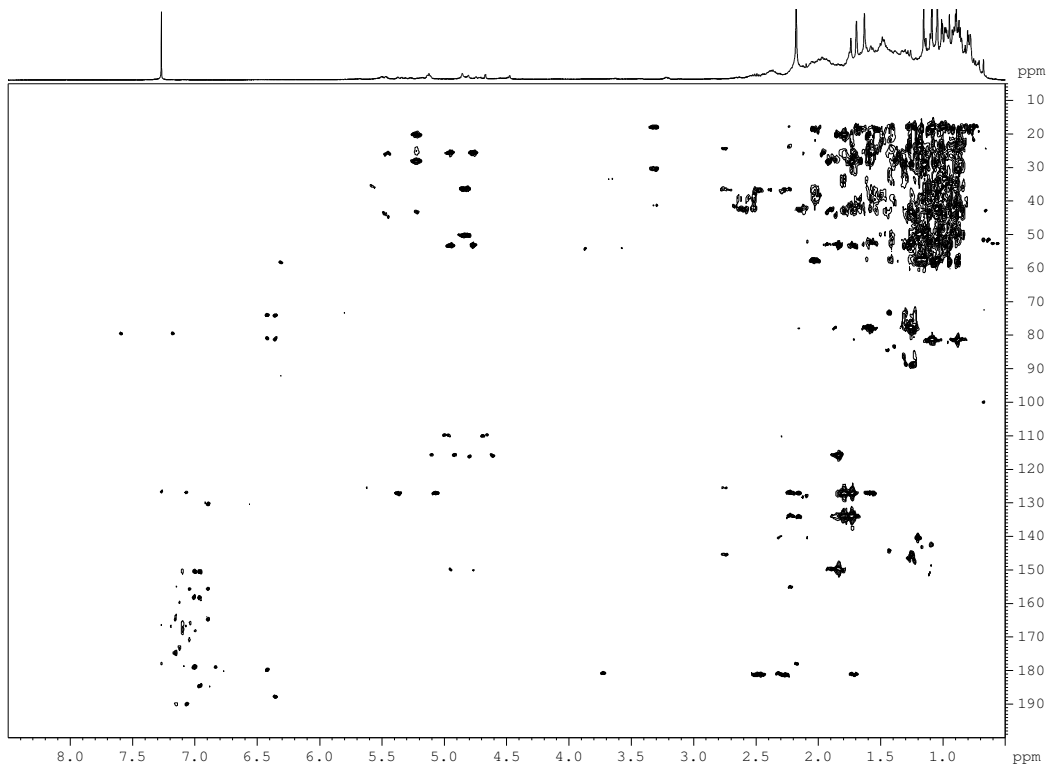
Φάσμα ^1H NMR δάμπαρης σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δάμπαρης σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

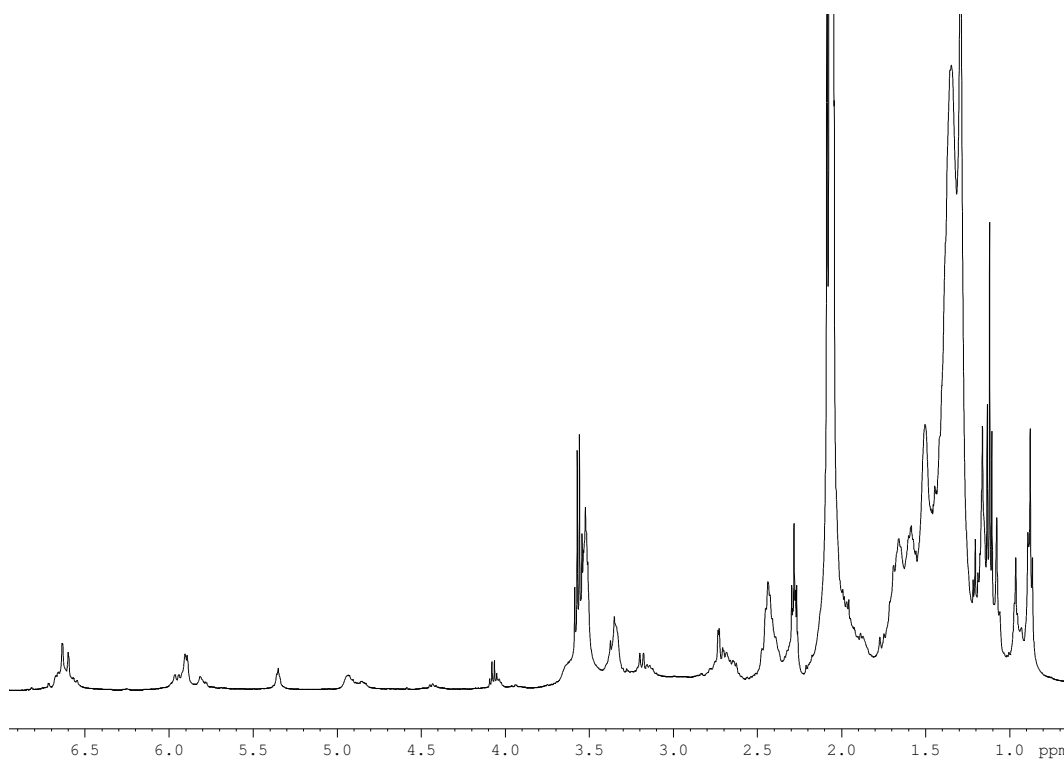


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR δάμματος σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

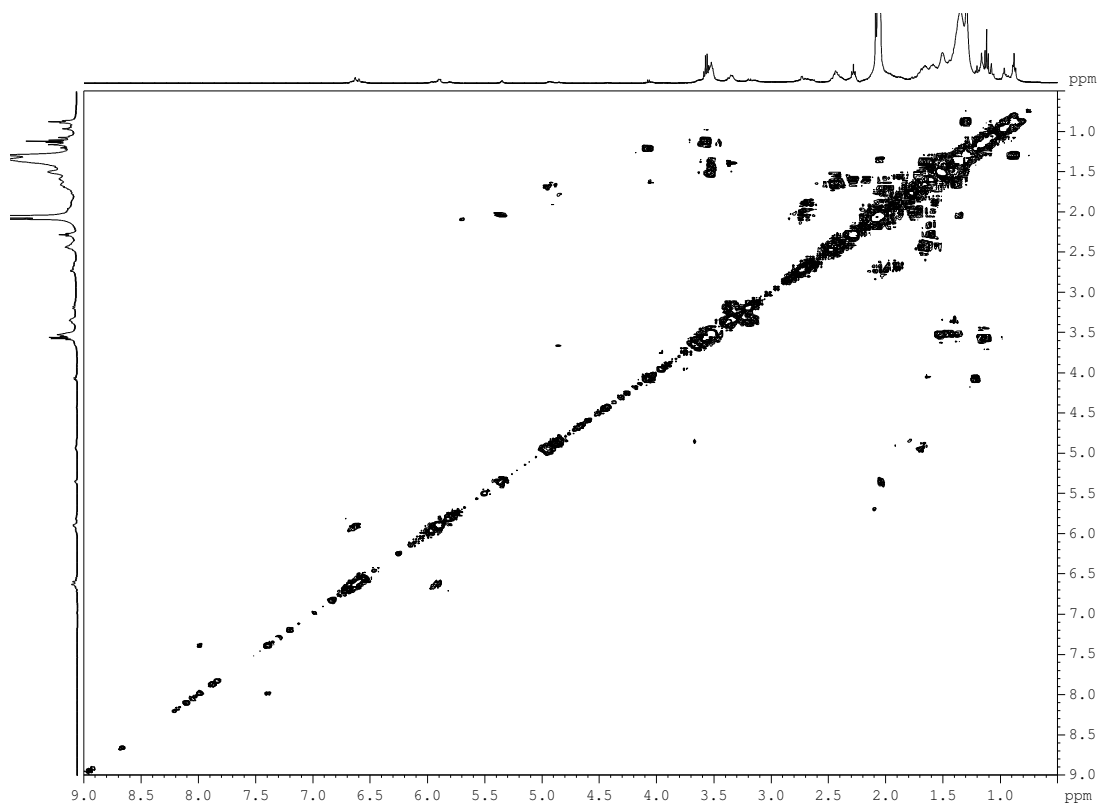


Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR δάμματος σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

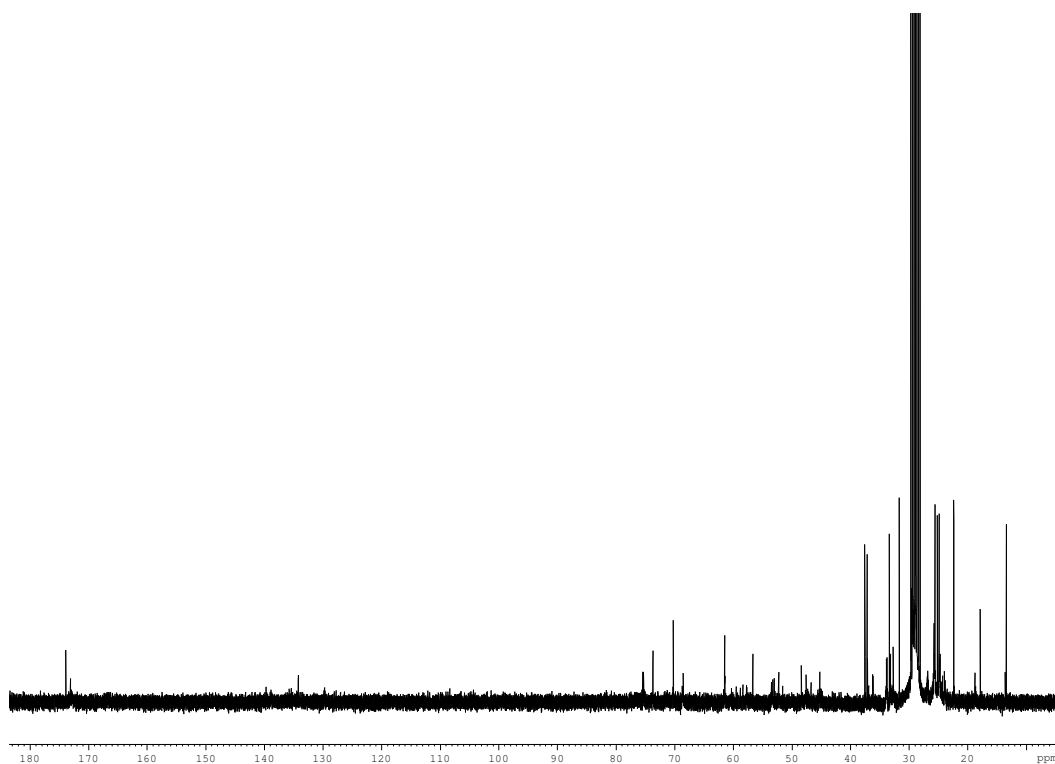
Φάσματα NMR της Σεσκιτερπενοειδούς Ρητίνης Σέλακ



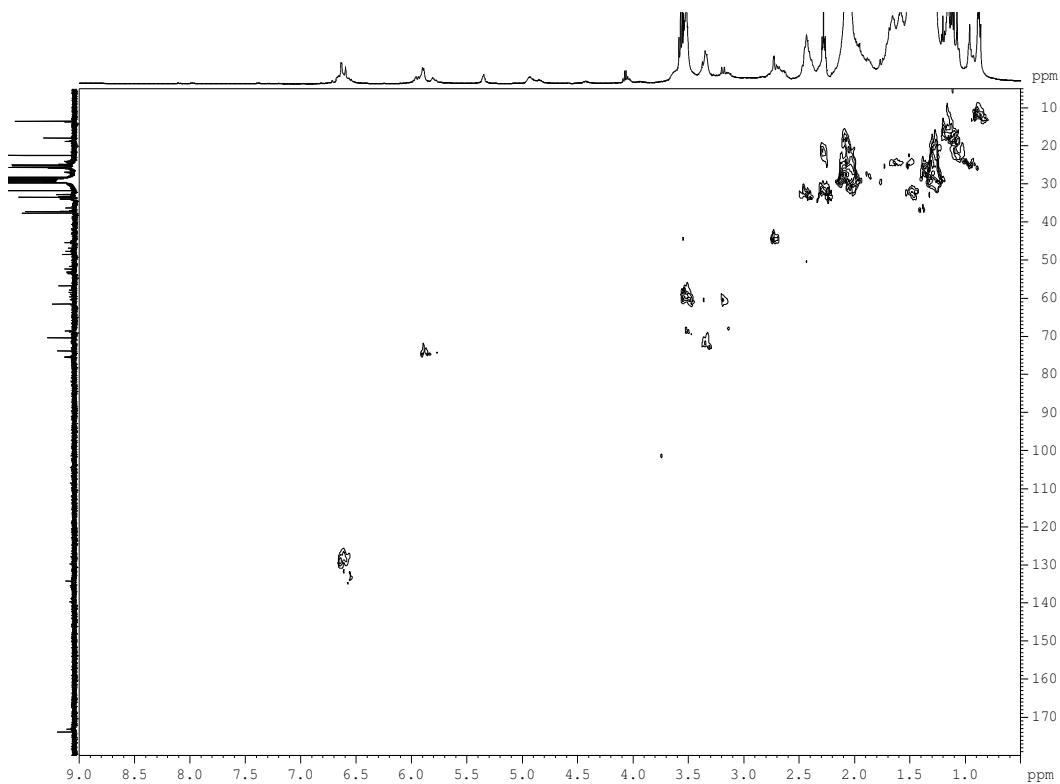
Φάσμα ^1H NMR σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



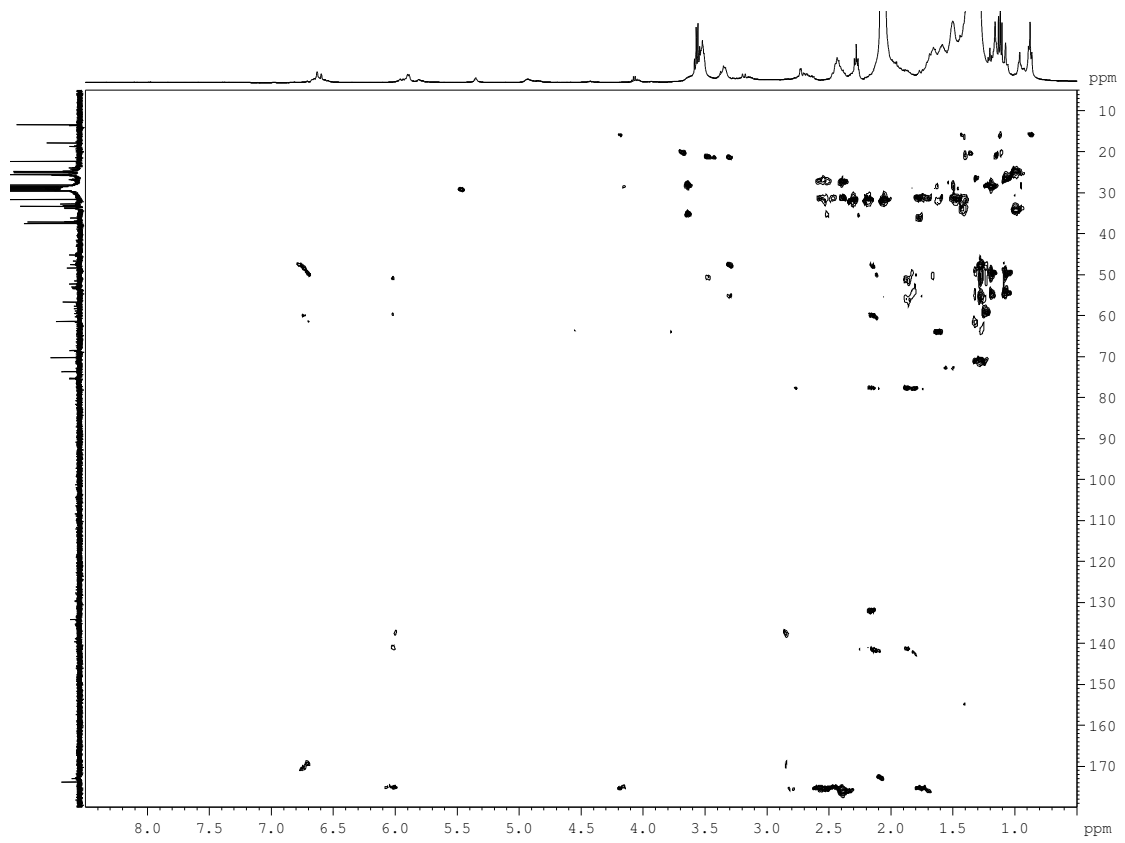
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Φάσμα ^{13}C NMR σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



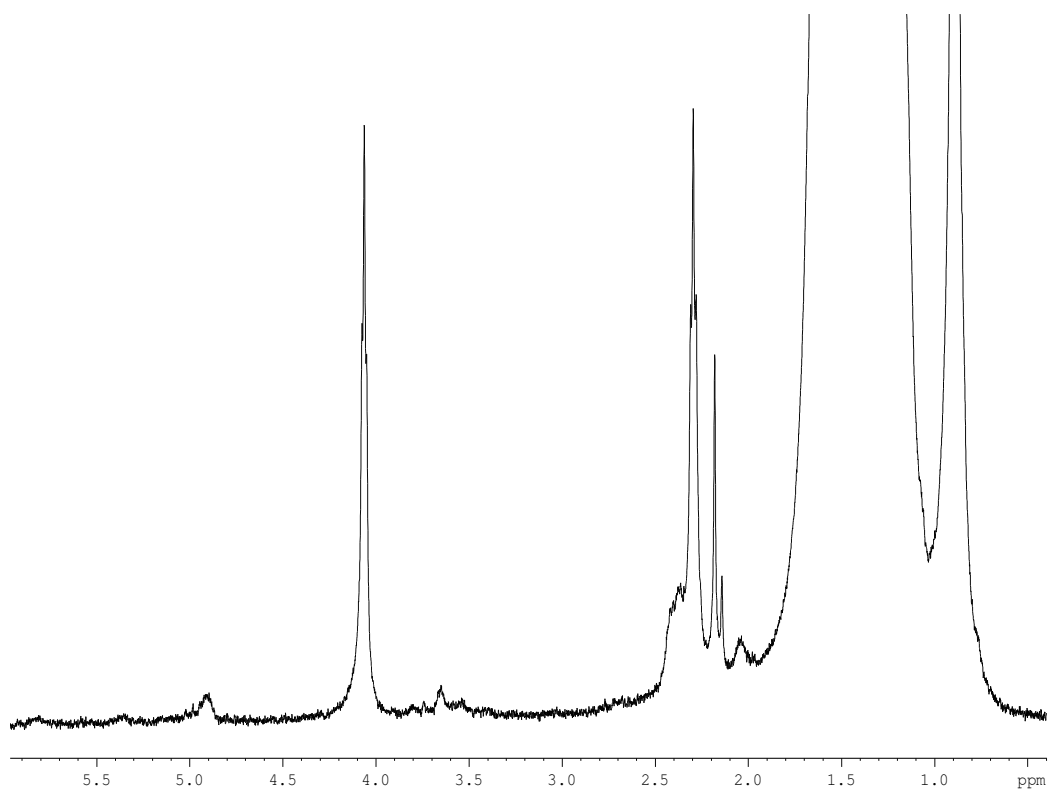
Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



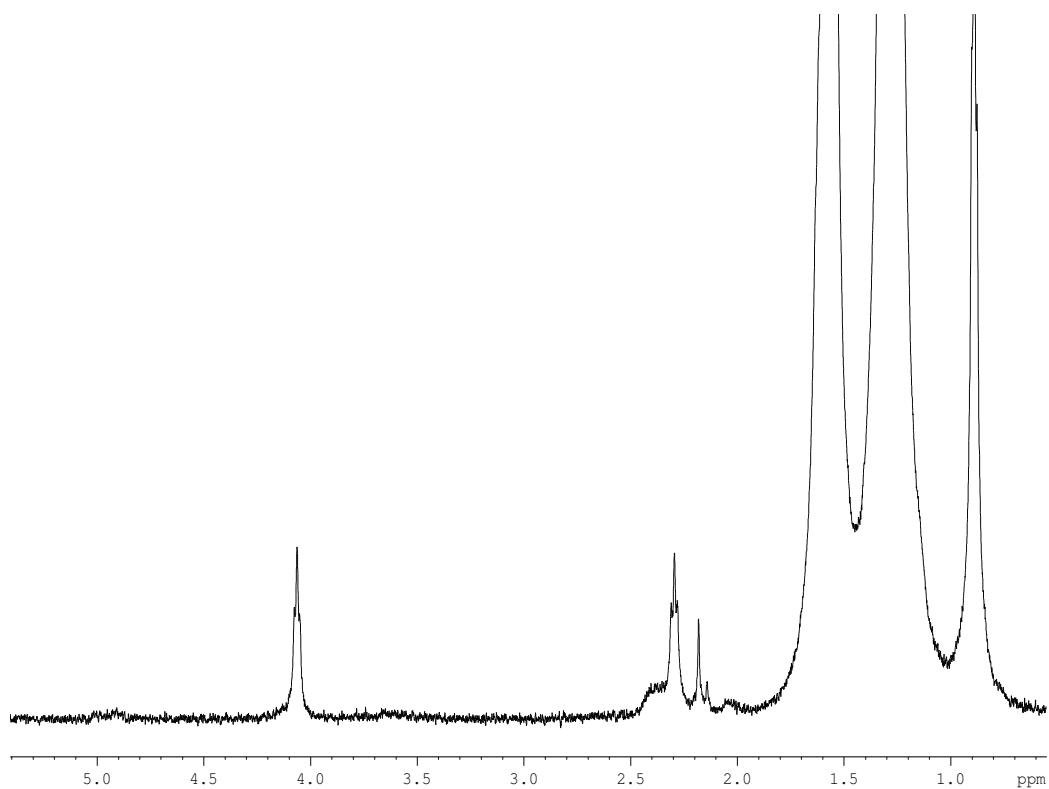
Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMBC 2D NMR σέλακ σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

Φάσματα NMR Τοιχογραφιών από την Πομπηία 4^{ου} Ρυθμού

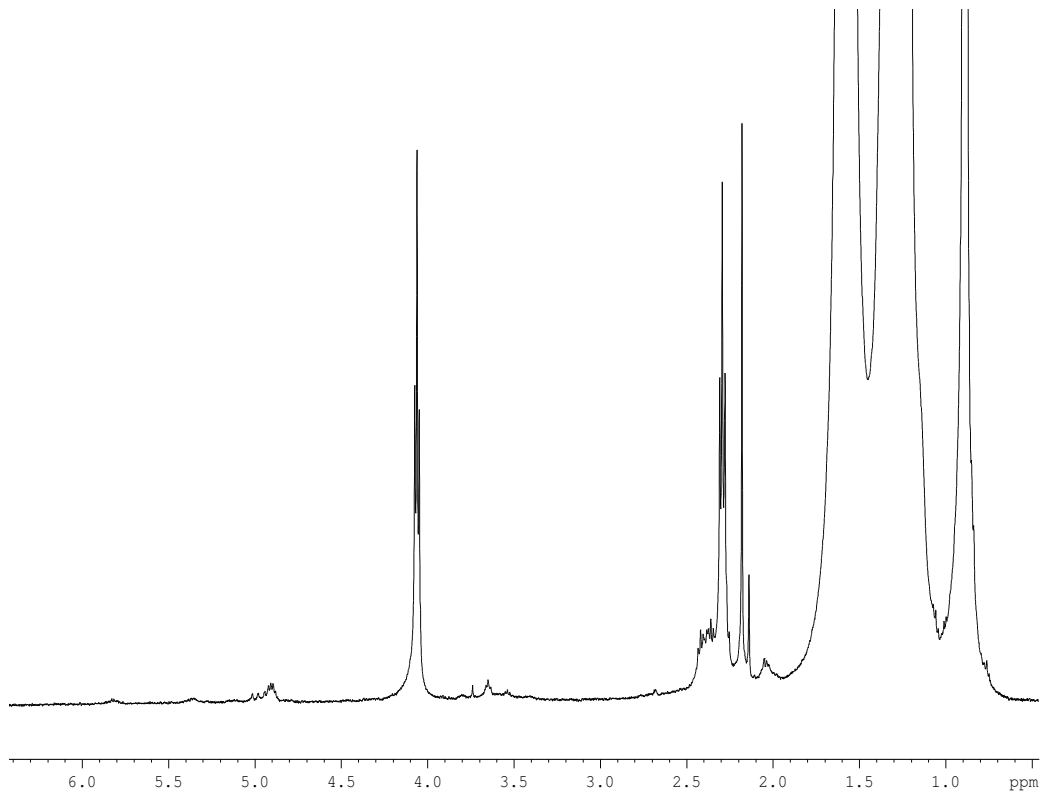
(79 μ.Χ.)



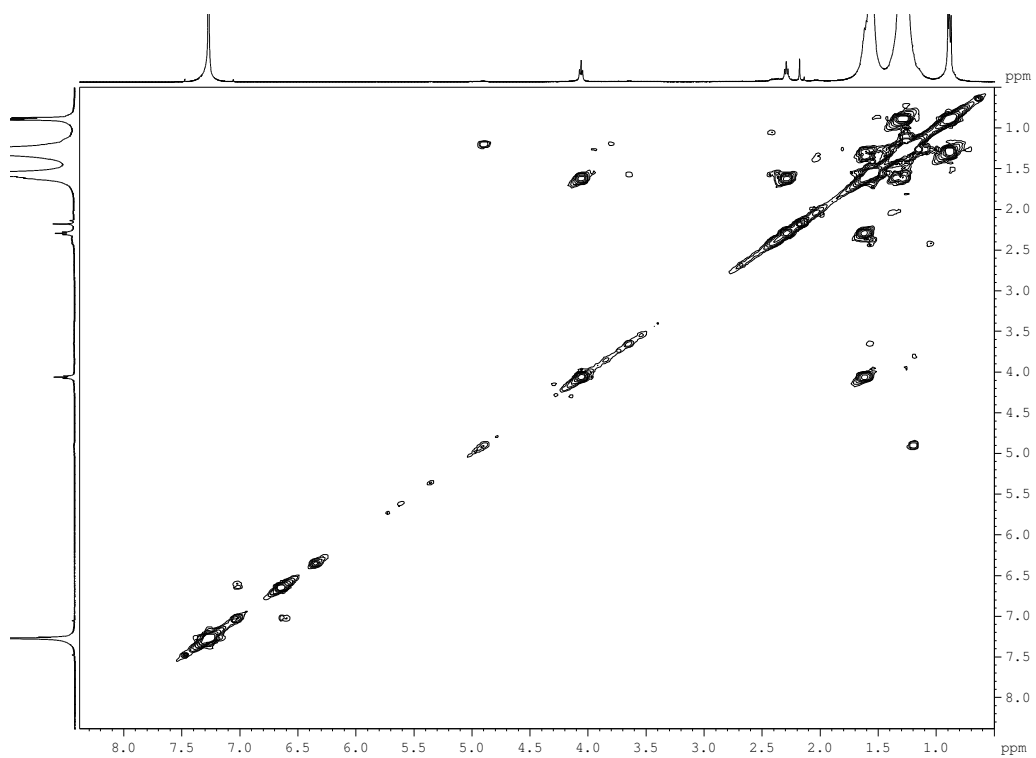
Φάσμα ¹H NMR “9/4 grey” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl₃



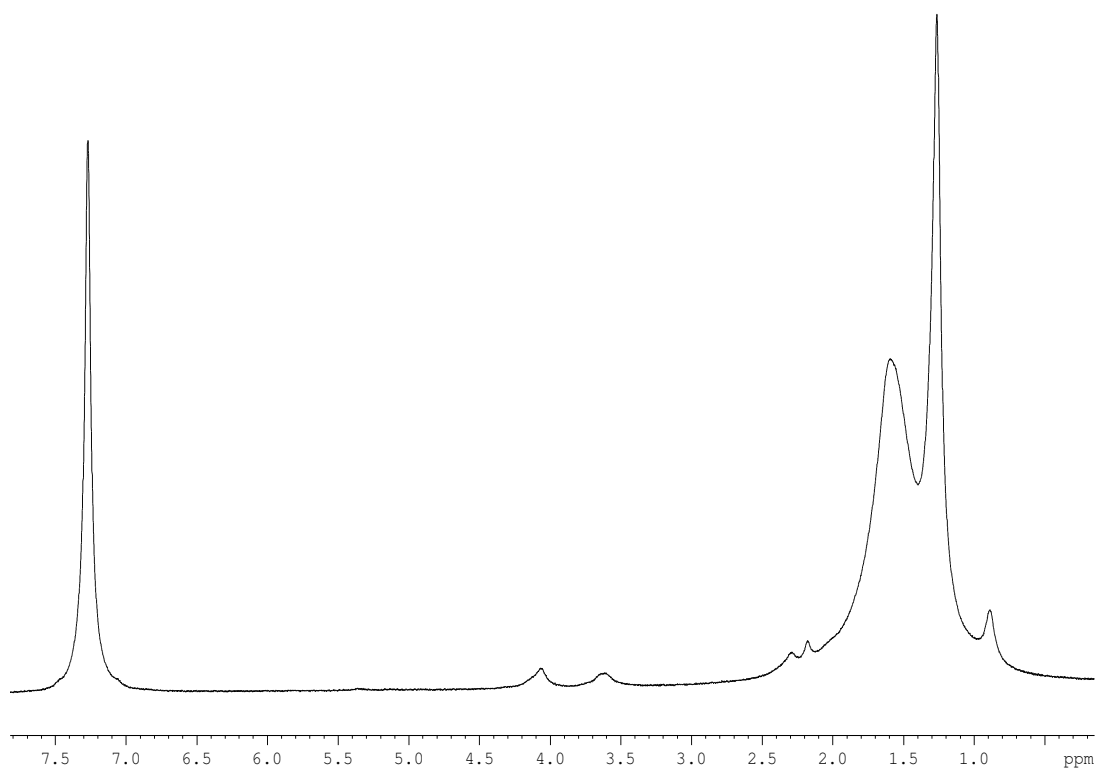
Φάσμα ¹H NMR “16/53 grey” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl₃



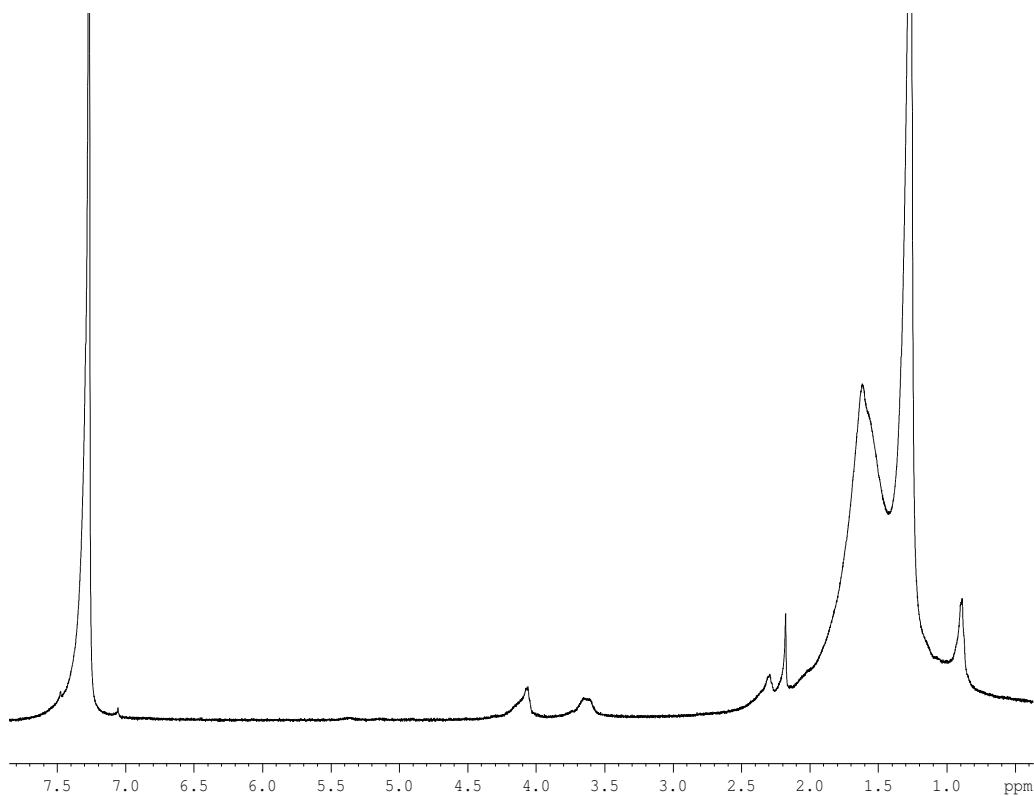
Φάσμα ^1H NMR δείγματος “8/10 grey” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος “8/10 grey” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



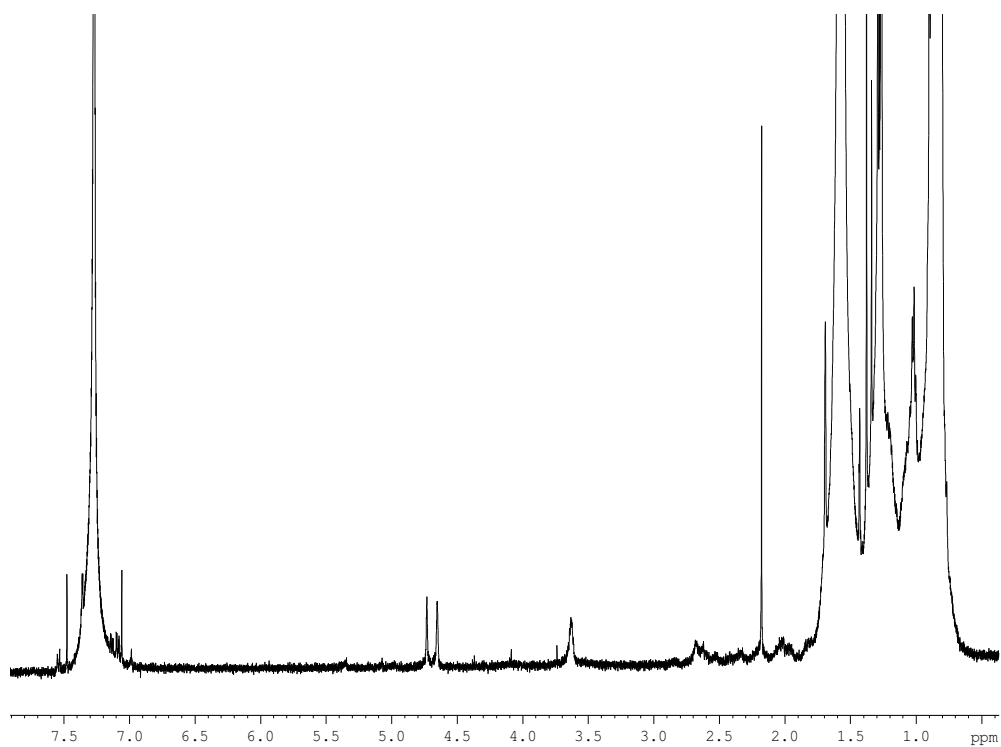
Φάσμα ^1H NMR δείγματος “1/14 blue” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



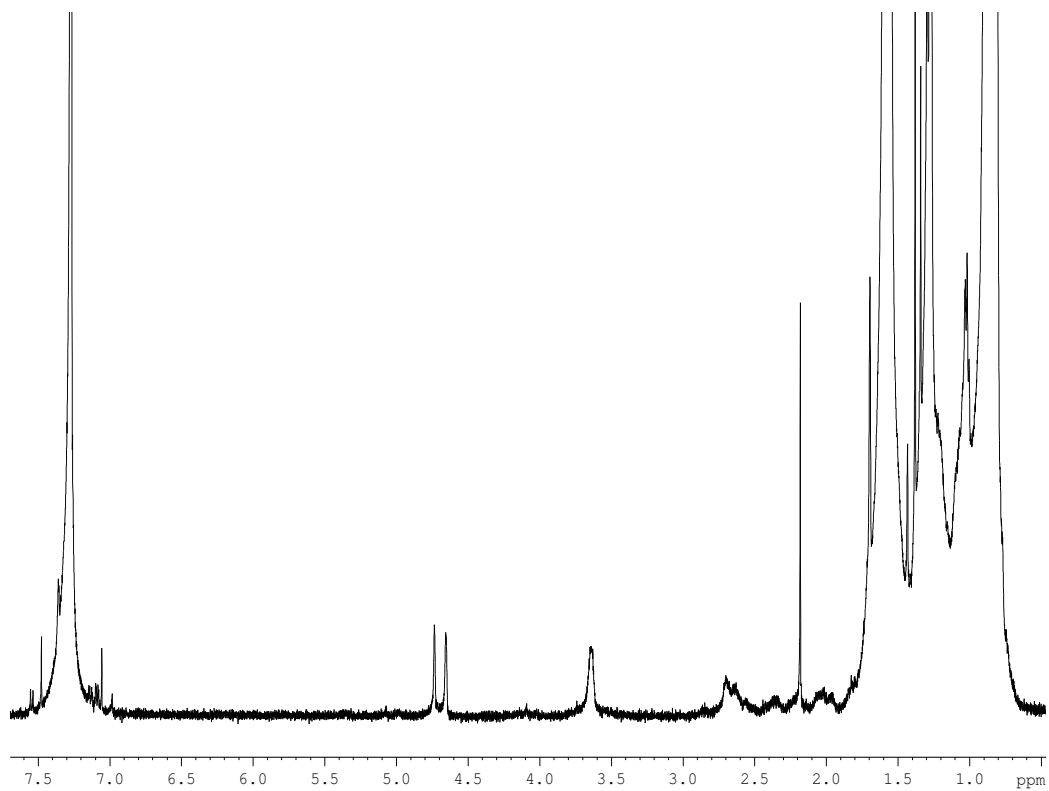
Φάσμα ^1H NMR δείγματος “1/1 blue” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

Φάσματα NMR Τοιχογραφιών από την Πομπηία 2^{ου} Ρυθμού

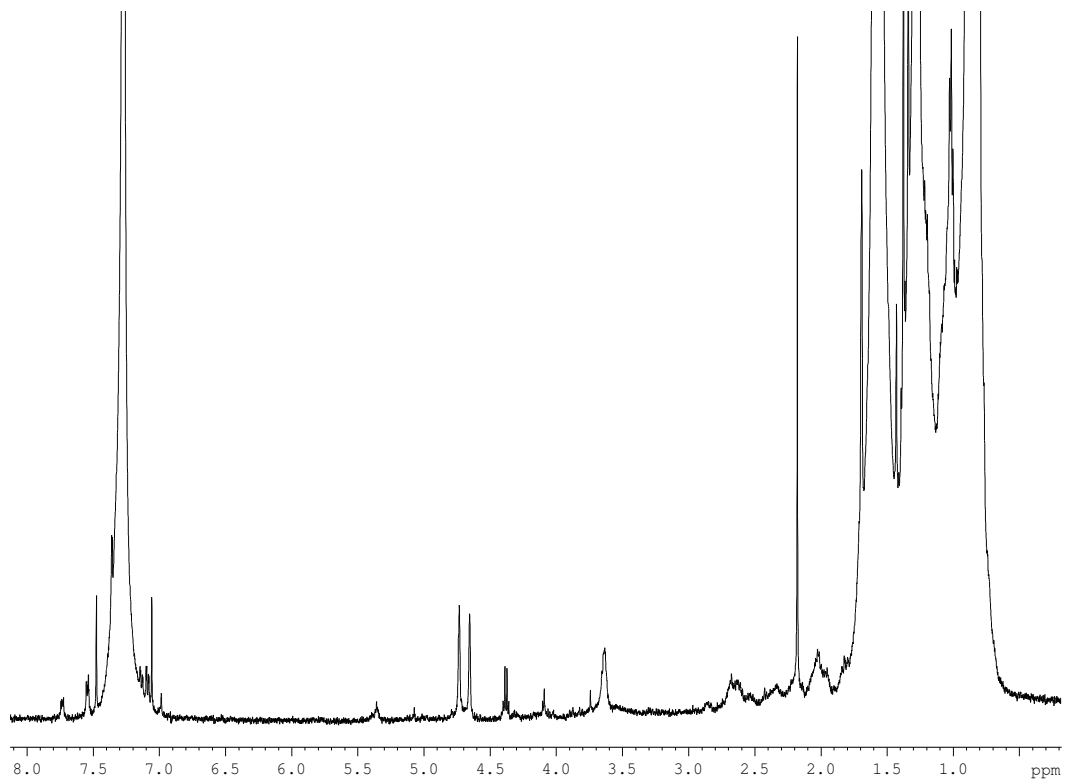
(80 – 20 π.Χ.)



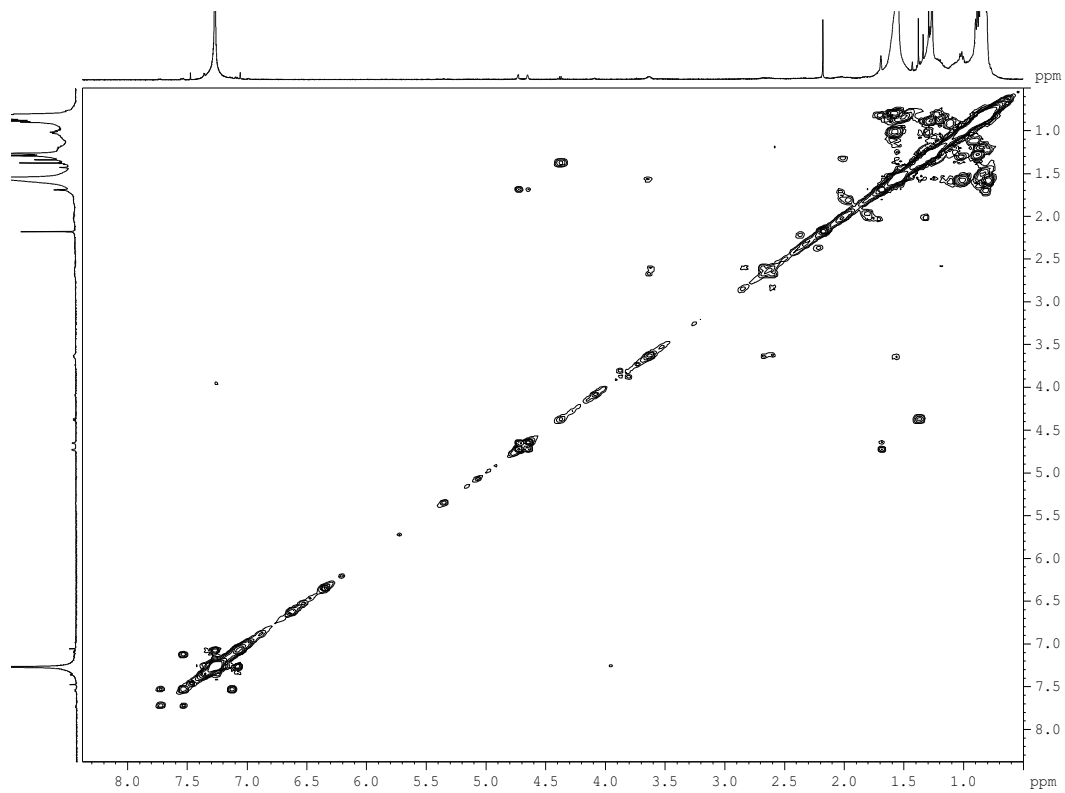
Φάσμα ^1H NMR δείγματος “3FF yellow” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



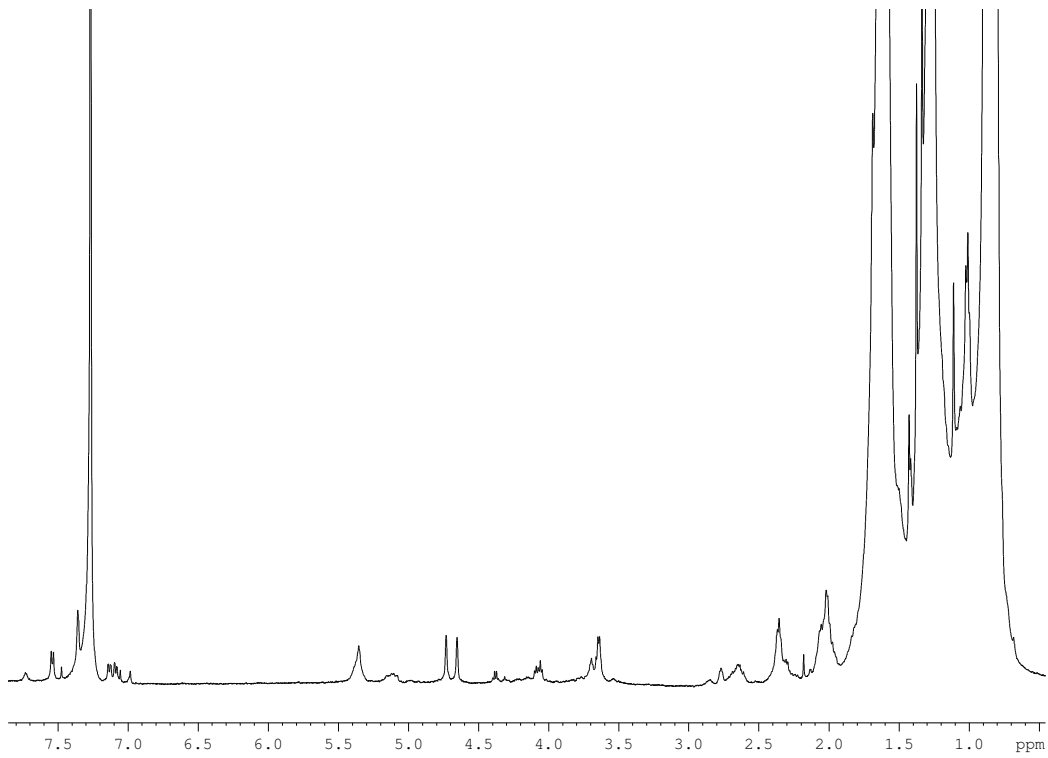
Φάσμα ^1H NMR δείγματος “Red A” σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



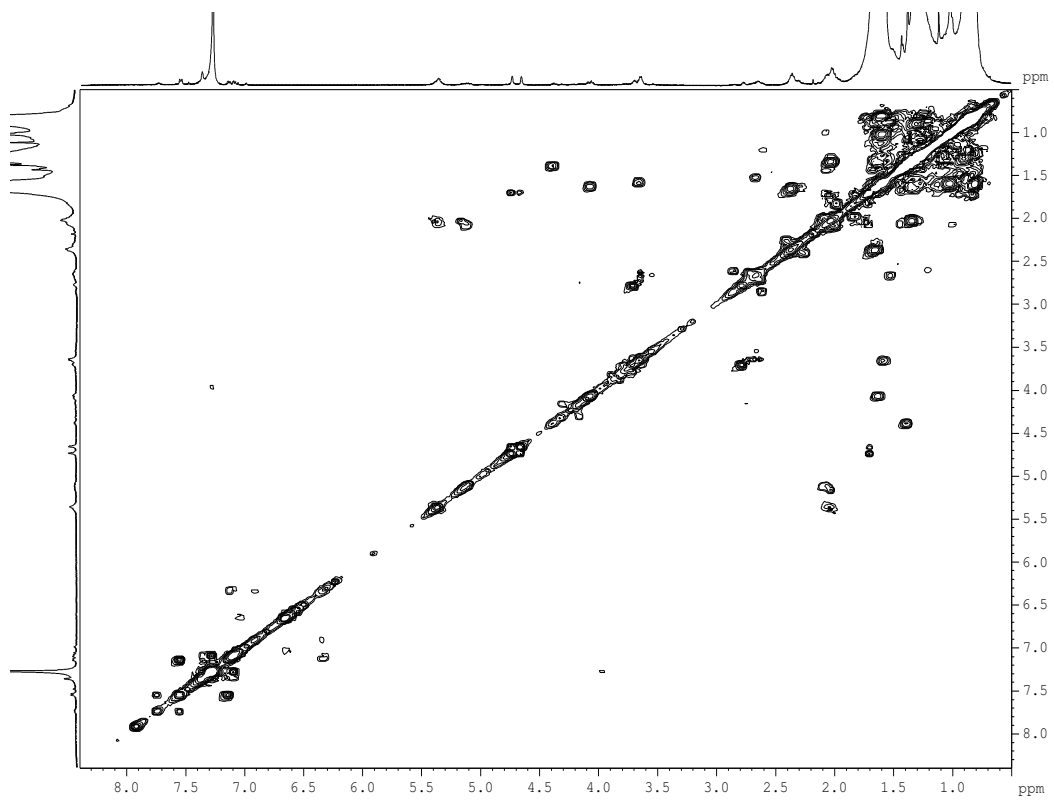
Φάσμα ^1H NMR δείγματος "Green A" σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος "Green A" σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



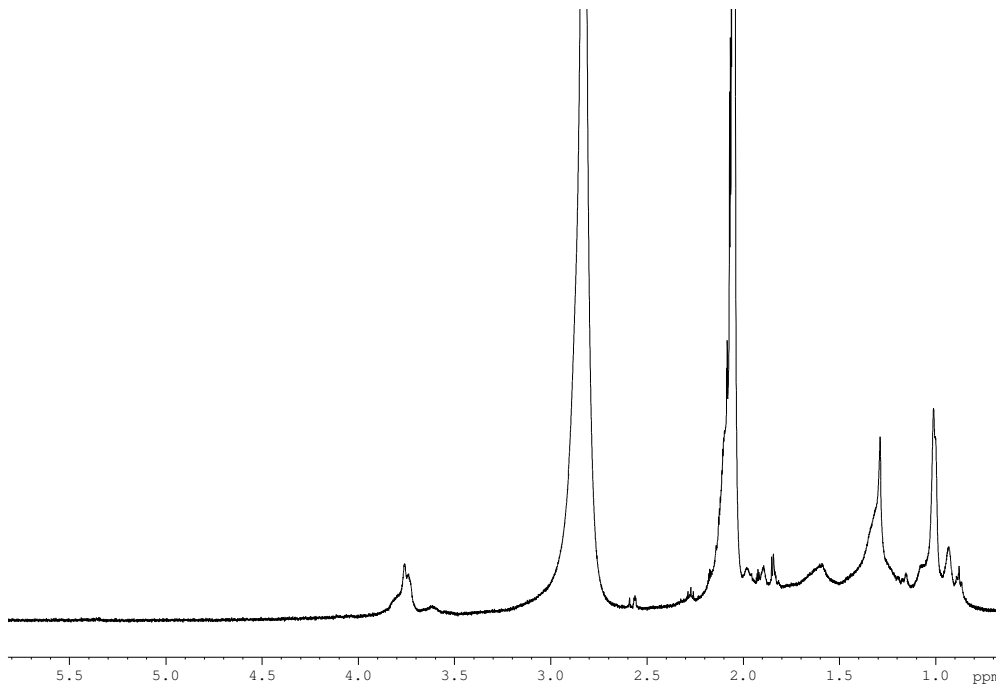
Φάσμα ^1H NMR δείγματος "Green A" σε shigemi σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3



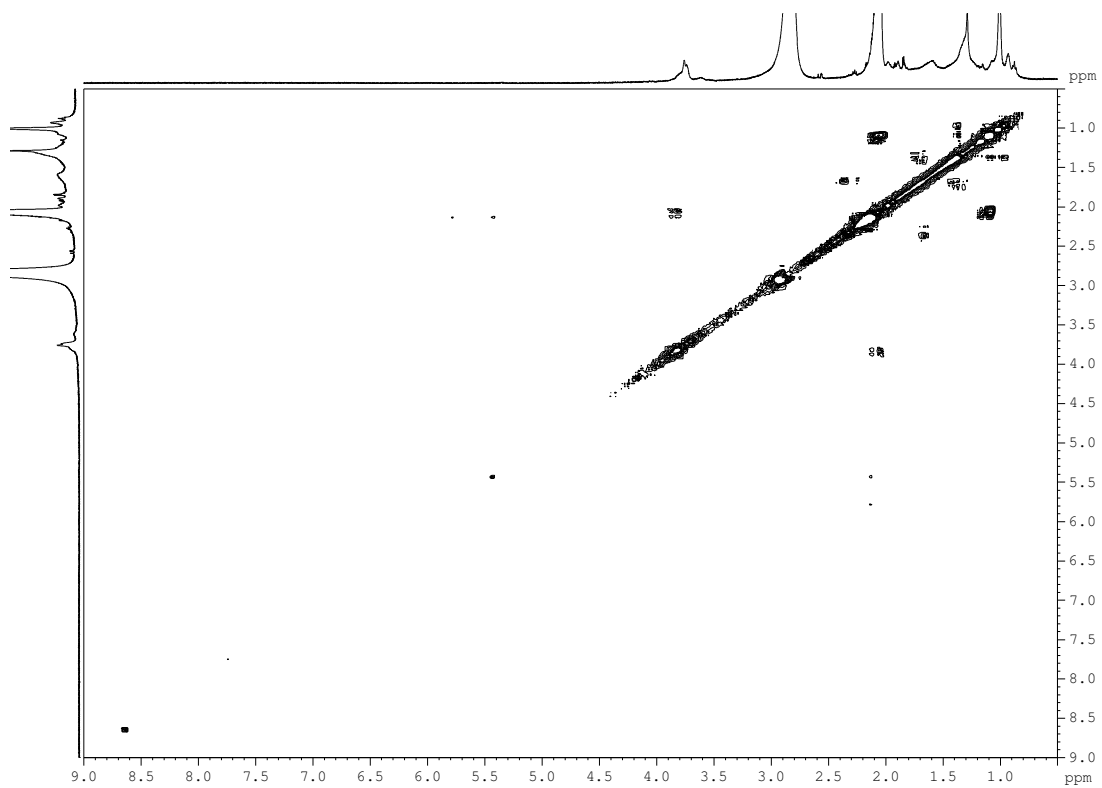
Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος "Green A" σε shigemi σε δευτεριωμένο χλωροφόρμιο CDCl_3

**Φάσματα NMR από δείγμα βερνικιού του πίνακα
«Κοπέλα που ζωγραφίζει»**





Φάσμα ^1H NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

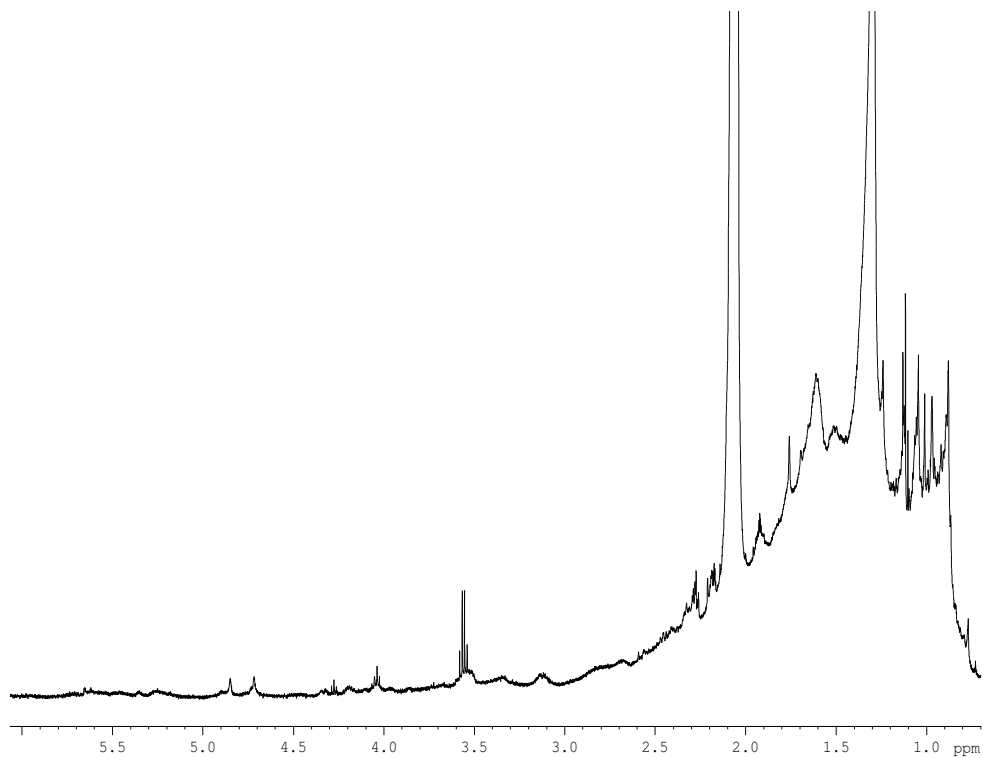


Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Κοπέλα που ζωγραφίζει» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

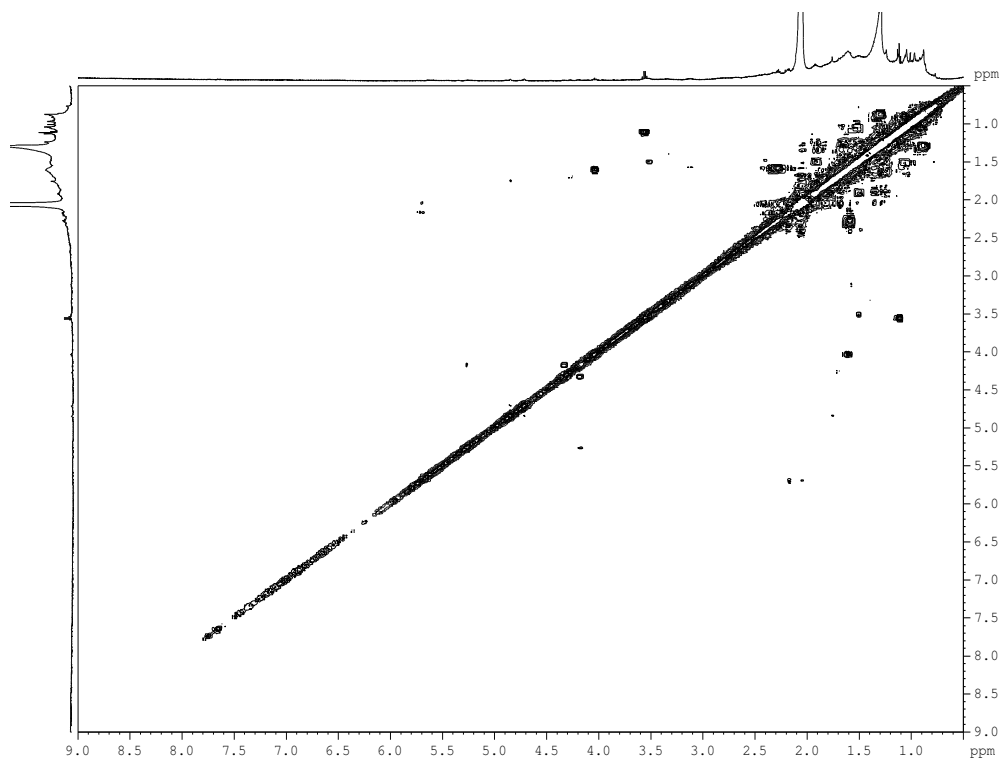
Φάσματα NMR από δείγμα βερνικιού του πίνακα

«Αγ. Τρύφων»





Φάσμα ^1H NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Αγ. Τρύφων» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

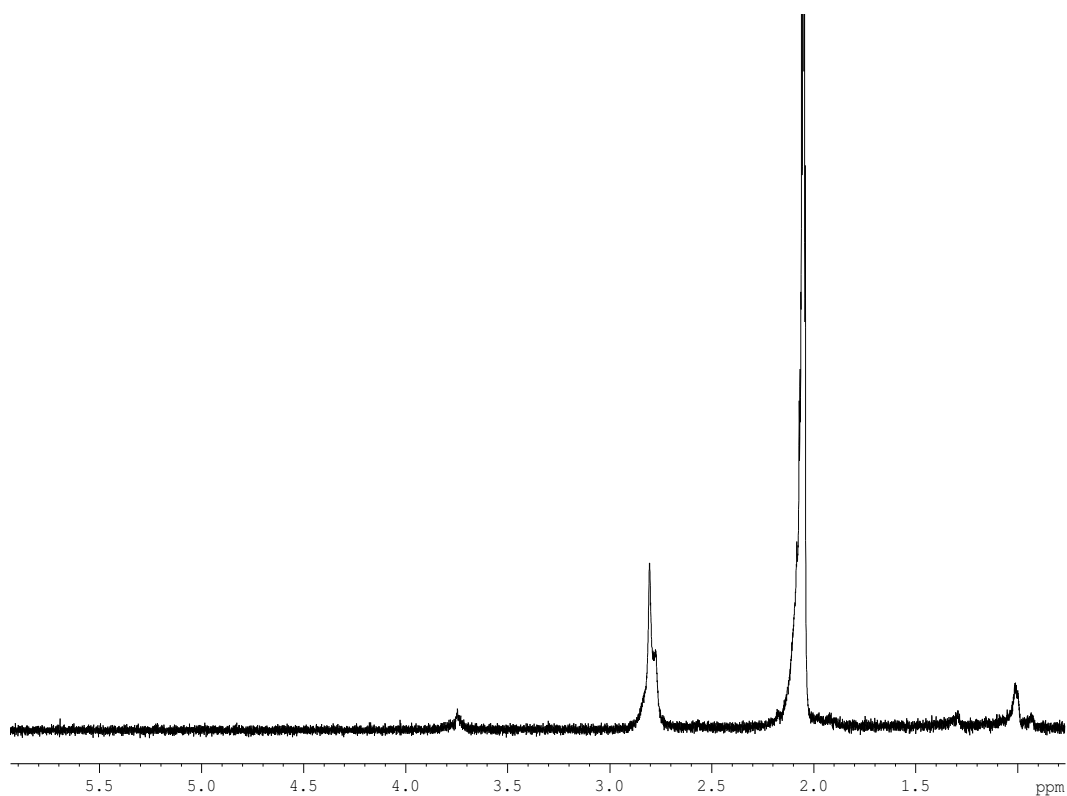


Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Αγ. Τρύφων» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

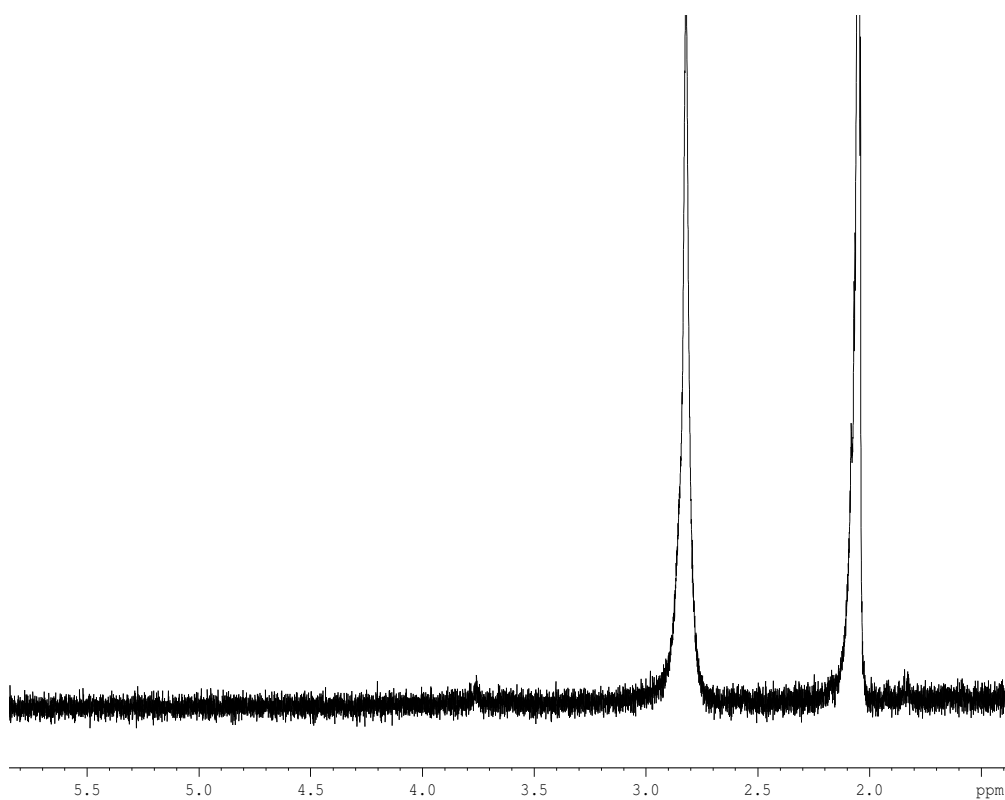
Φάσματα NMR από δείγματα βερνικιού των πινάκων

«Αγ. Τριάδα» και «Αγ. Βαρβάρα»





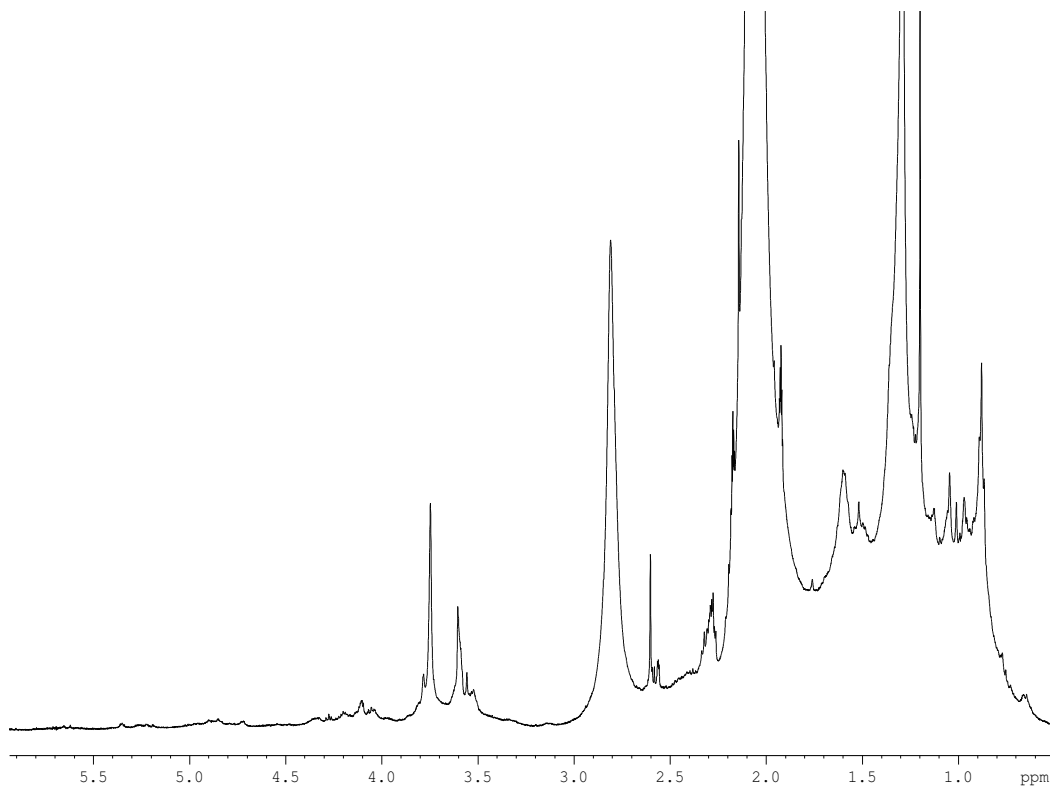
Φάσμα ^1H NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Αγ. Τριάδα» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



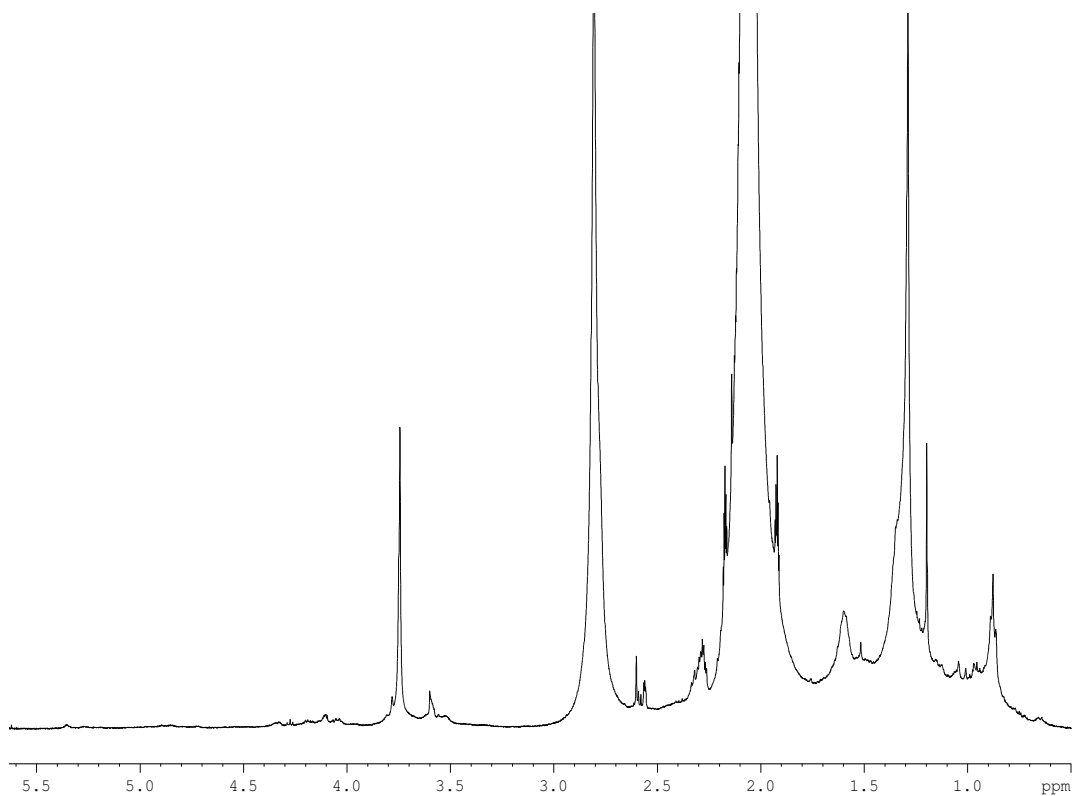
Φάσμα ^1H NMR δείγματος βερνικιού του πίνακα «Αγ. Βαρβάρα» σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6

**Φάσματα NMR από δείγματα βερνικιού του πίνακα
«Η βάπτιση του Χριστού»**

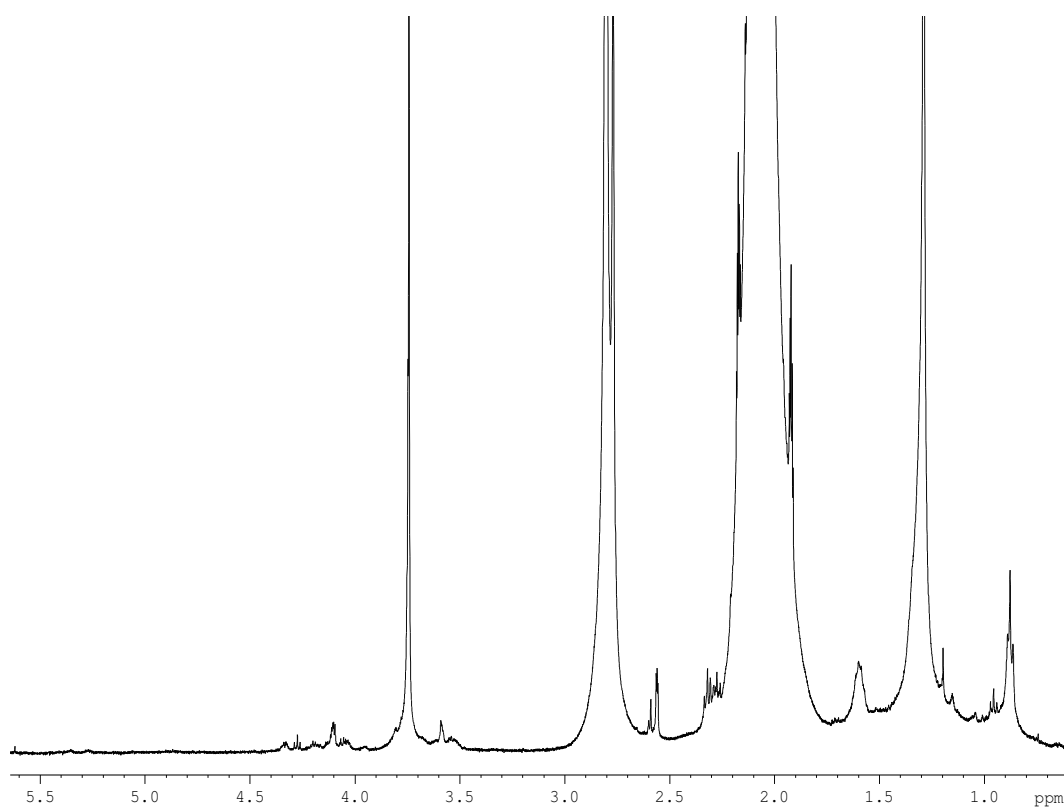




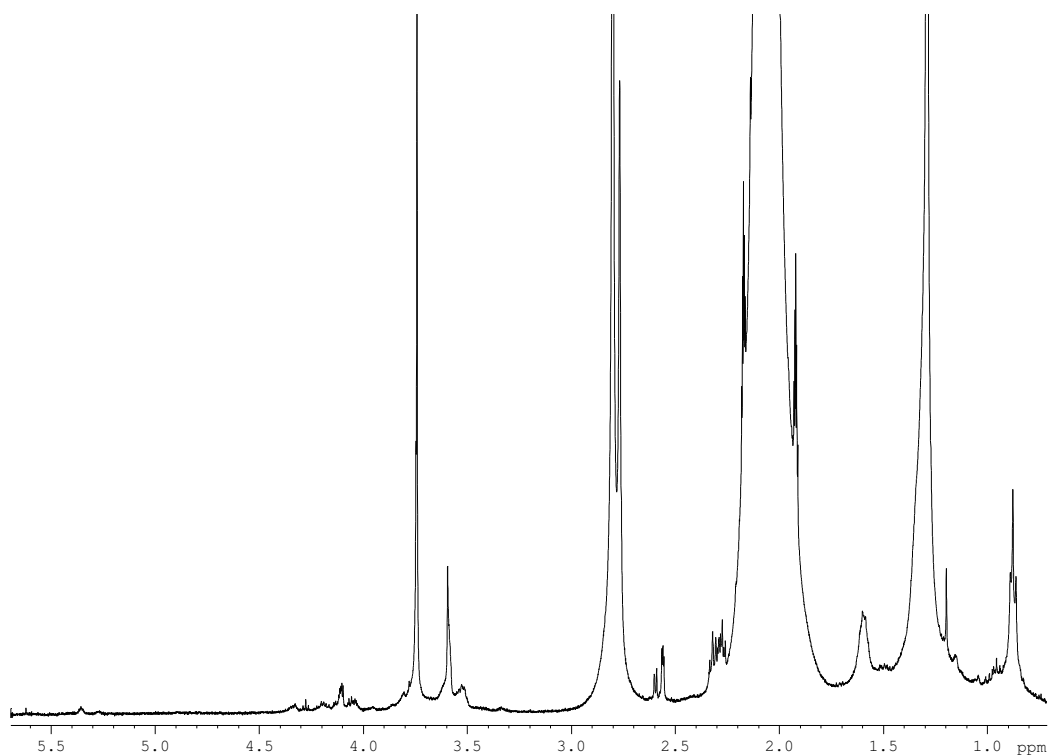
Φάσμα ^1H NMR του δείγματος "vid 16-17 a" σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



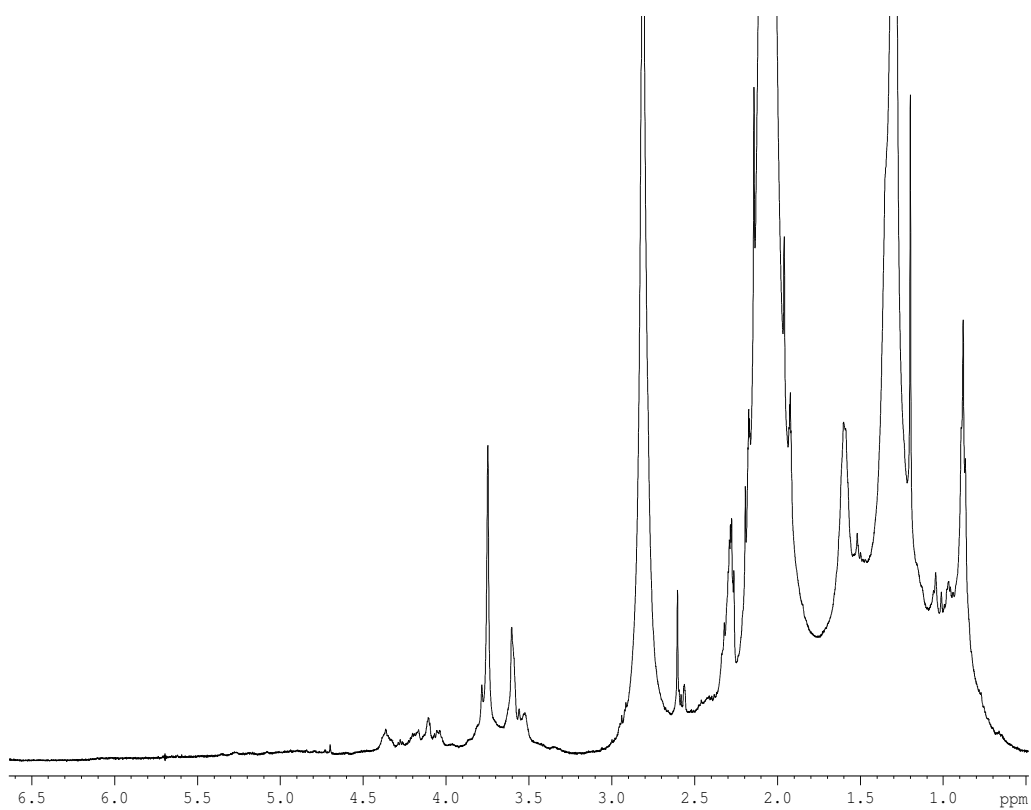
Φάσμα ^1H NMR του δείγματος "vid 16-17 b" σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



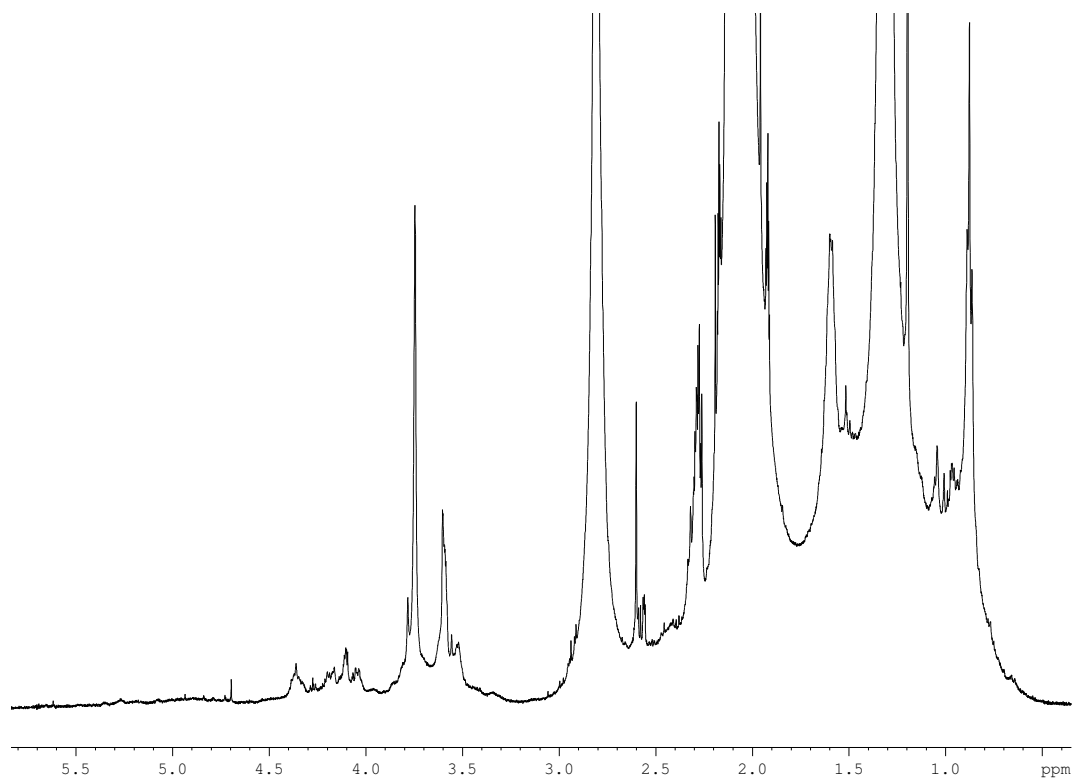
Φάσμα ^1H NMR του δείγματος “vid 16-17 c” σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6



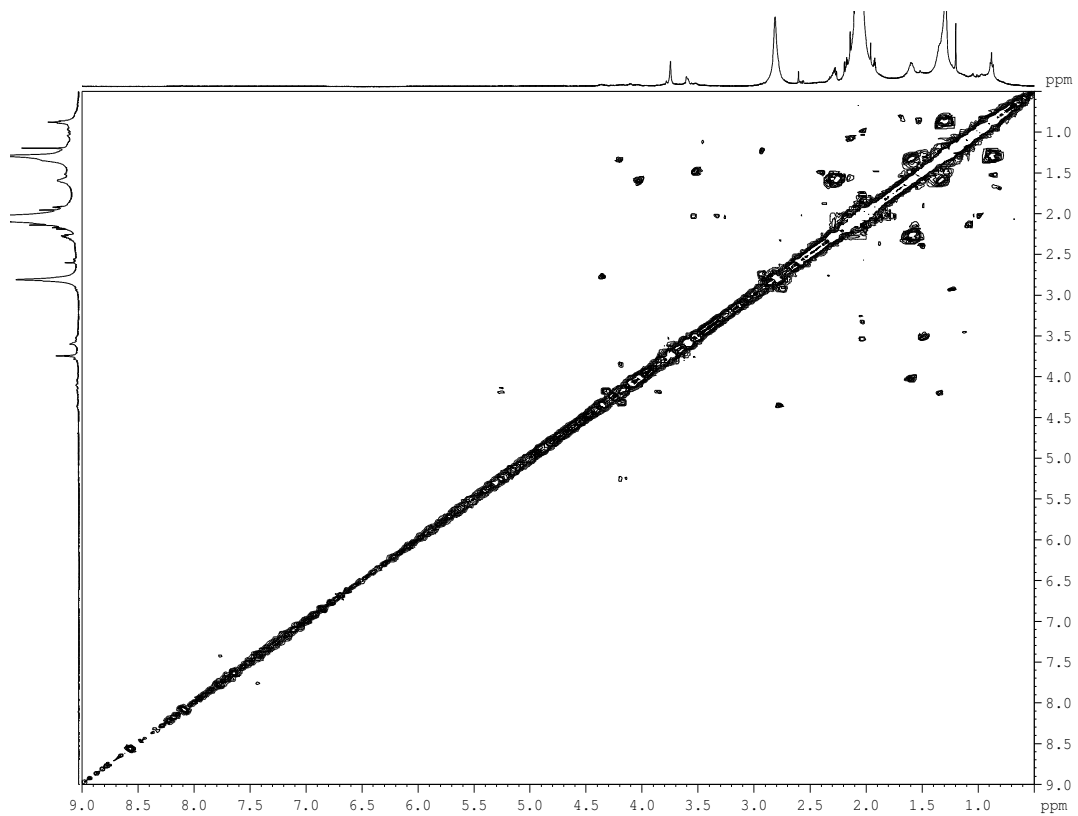
Φάσμα ^1H NMR του δείγματος “vid 16-17 d” σε δευτεριωμένη ακετόνη-d6



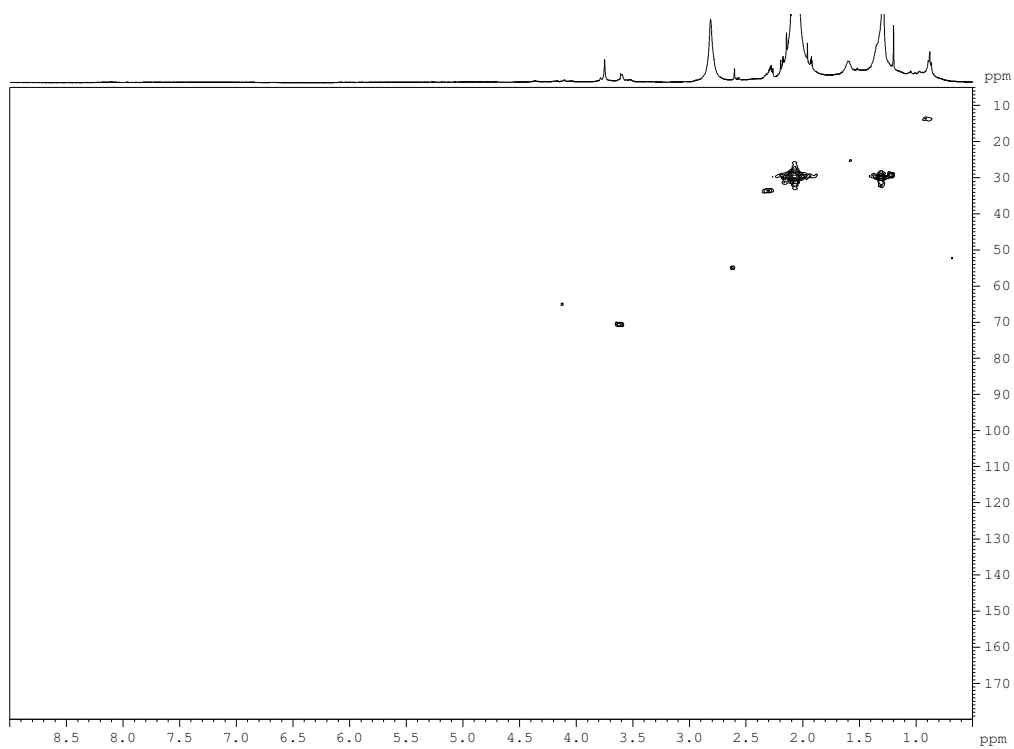
Φάσμα ^1H NMR του δείγματος “vid 16-17 e” σε δευτεριωμένη ακετόνη-d₆



Φάσμα ^1H NMR του δείγματος “vid 16-17 e” σε δευτεριωμένη ακετόνη-d₆



Φάσμα ^1H - ^1H gCOSY 2D NMR του δείγματος “vid 16-17 e” σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6



Φάσμα ^1H - ^{13}C gHMQC 2D NMR του δείγματος “vid 16-17 e” σε δευτεριωμένη ακετόνη- d_6