



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2021 00073

(22) Data de depozit: 25/02/2021

(41) Data publicării cererii:
30/08/2021 BOPI nr. 8/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI
MOLECULARE, STR. DONAT NR.67-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• MOLDOVAN ZAHARIE,
STR.N.TITULESCU, NR.35, SC.II, ET.2,
AP.16, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• COVACIU FLORINA-DORINA,
STR.ZORILOR, NR.38, BL.5Y, SC.4, AP.35,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• BRATU IOAN, STR.ARANY IANOS, NR.9,
AP.4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(54) IDENTIFICAREA ȘI CUANTIFICAREA DE MARCHERI
MOLECULARI DIN PICTURA LUI GRIGORE RANITE
ÎN VEDEREA AUTENTIFICĂRII OPERELOR SALE,
PRIN UTILIZAREA SISTEMULUI CUPLAT GAZ
CROMATOGRAF-SPECTROMETRU DE MASĂ (GC-MS)

(57) Rezumat:

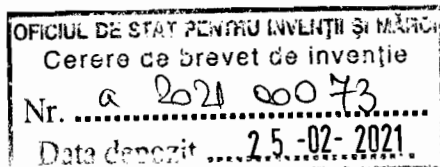
Invenția se referă la o metodă de detectare, determinare structurală și cantitativă a compușilor chimici dintr-un material pictural colectat din obiecte de artă utilizată pentru identificarea autorului. Metoda, constă în etapele de: colectarea unei probe de 2...5 mg din părți semnificative ale picturii, dizolvarea în 1 ml de n-hexan prin utilizarea unei băi ultrasonice, în 2 cicluri de 30 min, centrifugarea soluției timp de 5 min la 3500 rot/min, din care 2 μl extract este injectat în sistemul cuplat Gaz Cromatograf-Spectrometru de Masă pentru analiza instrumentală, urmată de detectarea,

identificarea structurală și cantitativă concomitentă a trei categorii de markeri moleculari utilizați direct în caracterizarea materialului: acizi grași, n-alcani și esteri superiori, având un domeniu de fierbere de 150...750°C, masă moleculară între 142 și 732 Daltoni, precum și distribuția individuală a fiecărui component, astfel că materialul pictural astfel caracterizat este atribuit autorului operei artistice.

Revendicări: 4
Figuri: 7



71



Descrierea invenției

Identificarea și cuantificarea de markeri moleculari din pictura lui Grigore Ranite în vederea autentificării operelor sale, prin utilizarea sistemului cuplat Gaz Cromatograf-Spectrometru de Masa(GC-MS)

În activitățile de conservarea și restaurare a picturilor murale interioare, precum și a icoanelor, cunoașterea structurii materialelor picturale este fundamentală.

Prezenta invenție se referă la o metodă de separare și identificare a markerilor moleculari adică a compușilor chimici stabili, dintr-un material pictural colectat din obiecte de artă în vederea identificării autorilor.

Metoda se bazează pe utilizarea sistemului cuplat Gaz Cromatograf-Spectrometru de Masa (GC-MS). Gaz Cromatograful produce separarea compușilor aflați în matrici complexe permițând analiza calitativă și cantitativă. Spectrometrul de masă prevăzut cu o sursă de ionizare cu impact electronic permite identificarea fiecărui compus după separarea în cromatograf, pe baza ionilor detectați. Prin utilizarea coloanelor cromatografice de tip capilar și a condițiilor de separare optime sistemul GC-MS permite analiza completă (cantitativă și structurală) a markerilor moleculari din amestecuri complexe, colectați din materiale picturale.

Procesele cromatografice se bazează pe fenomene de adsorbție-desorbție a solutului, între un mediu poros și eluent. Aceste procese pot fi influențate de condiții externe, cum este temperatura și evident de natura substanței adsorbante numită fază staționară. Separarea fizică a compușilor se realizează prin cromatografie pe coloană, caz în care fluidul cu proba este antrenat prin mediul solid datorită unui gradient de presiune sau temperatură între extremitățile coloanei de separare. Separarea eficientă a eluenților pe coloana se face prin soluții bazate pe efectul unui gradient de temperatură.

Identificarea compușilor se face cu ajutorul spectrometrului de masă care este înzestrat cu sursă de ionizare specifică pentru obținerea spectrelor de masă caracteristice. Acestea se obțin prin detectare ionilor proveniți de la aceiași moleculă în condiții de interacțiune electron-moleculă bine determinate (energia electronilor la valori corespunzătoare pentru ionizare și fragmentare moleculară).

Metoda brevetată permite analiza moleculelor din material pictural situate într-un domeniu foarte larg de volatilitate (punct de fierbere în intervalul 150-750 °C) și extragerea datelor necesare pentru caracterizarea materialelor utilizate de artist.

I) Contextul, gradul de noutate și necesitatea dezvoltării rezultatului de cercetare:

Invenția are contribuții esențiale în activitatea de conservare și restaurare a picturilor murale interioare precum și a icoanelor existente în edificii monumentale vechi. În acest sens cunoașterea cu precizie a structurii materialelor picturale este de primă importanță.

Determinările cantitative și structurale ale markerilor se realizează pe probe colectate din lucrări de artă după extragerea compușilor prin metode adecvate, astfel ca datele științifice obținute să corespundă pentru obținerea de informații complete.

În ultimii ani s-a acționat în mod susținut în direcția de inventariere și găsim a fondurilor pentru restaurarea și conservarea bisericilor de lemn de pe teritoriul țării. Această activitate presupune eforturi susținute pentru a constata starea actuală de conservare a acestora, a patrimoniului lor și pentru reactualizarea listei acestor monumente.

Bisericile de lemn din Transilvania sunt înscrise pe Lista Monumentelor Istorice. Fiecare monument are atașat fișă asupra decorului sculptat, asupra picturii murale, a obiectelor de patrimoniu mobil și de asemenea cuprinde date referitor la starea de conservare, în încercarea de a oferi o imagine cât mai completă asupra situației monumentului în prezent. Reprezentând valori de ordin artistic și istoric, elementele care formează patrimonial edificiilor de lemn se păstrează parțial, suficient însă cât să ofere o imagine asupra artei românești din această zonă pe parcursul secolelor XVII-XIX.

Un renumit pictor de icoane și biserici este Grigore Ranite care a creat în secolul al XVIII-lea (1712-1766) și care acoperă cu opera sa o suprafață largă cuprinsă în regiunile Oltenia, Transilvania și Banat din România și, de asemenea, Subotica din Serbia. Datele existente referitor la opera de artă supravieuitoare demonstrează că acest artist este unul dintre cei mai talentați pictori din a doua generație a școlii de artiști în stil brâncovean și unul dintre cei mai apreciați profesori de pictură din era românească din acele vremuri¹⁻³.

După o analiză stilistică minuțioasă efectuată de către istoricii de artă ai proiectului, ce a condus la stabilirea "amprente artistice" și a „zonelor de interes” și cea iconografică și teologică a picturilor religioase, în cazul pictorului zugrav Grigore Ranite au fost selectate pentru

expertizarea tehnico-stiintifică, o serie de icoane din Transilvania, aflate în patrimoniul Muzeului Etnografic al Transilvaniei: Icoana „Schimbarea la față” (inventar B4508), Icoana „Întâmpinarea Domnului” (inventar B 4510), „Nașterea Domnului” (inventar B4511), „Adormirea Maicii Domnului” (inventar B4512) și „ Intrarea Domnului în Ierusalim” (inventar B4513), precum și pictura murală din biserici, ca de exemplu: Biserica Sfânta Cuvioasa Parascheva din Rășinari și Biserica Sfântul Nicolae din Scheii Brașovului.

Lucrarea prezenta își propune detectarea, determinarea structurală și cantitativă a n-alcanilor, acizilor grași și a esterilor superiori la probe de material pictural. Materialul pictural este colectat din lucrări de artă existente în bisericile din zona Transilvania, biserici edificate în secolul 18 și 19 ale căror autor este Grigore Ranite.

II) Descriere detaliată a rezultatului

În stabilirea lianților din materiale picturale un rol hotărâtor îl are determinarea markerilor moleculari din familiile acizilor grași, n-alcanilor și a esterilor⁴⁻⁶. Este cunoscut faptul că în esență materialul pictural este constituit din pigmenți legați de un liant de tip grasime. Liantul poate fi ulei fiert într-o rășină sau ceara și poate avea ca adaosuri extracte vegetale sau albuș de ou. Drept urmare compuşii chimici pot fi de o mare diversitate din punct de vedere structural și constituie o importantă amprentă a autorului⁷⁻¹¹.

În studiul structural al probelor din material pictural am utilizat un sistem cuplat constituit dintr-un gaz-cromatograf Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation) echipat cu o coloană capilară specifică pentru analiza hidrocarburilor, acizilor grași și a esterilor superiori și un spectrometru de masă Polaris Q (Thermo Electron Corporation) cu domeniul de masă în intervalul 40-800 Daltoni. Această tehnică permite determinarea cu precizie a compuşilor aflați în cantități extrem de mici cum este și cazul celor din probe de material pictural. Metodele cromatografice și spectrometrice de masă sunt metode utilizate foarte frecvent în investigarea materialelor din domeniul obiectelor de artă¹²⁻²⁰.

Pentru caracterizarea materialului pictural al pictorului Grigore Ranite am analizat grupul de markeri moleculari cuprinzând n-alcani, acizi grași și esteri superiori. Determinarea cu precizie a acestor compuşii bazată pe structura moleculară și analiza cantitativă este fundamentală.

Invenția consta din detectarea, determinarea structurală și cantitativă a acizilor grași, n-alcanilor și a esterilor superiori, la probe colectate din materialul pictural aparținând artistului Grigore Ranite.

II.1) Prelucrarea probelor

Probele supuse examinării au fost colectate din părți semnificative ale picturii „Nașterea Domnului”. Probele au fost dizolvate în solvenți care nu produc modificarea structurilor compușilor moleculari⁴. A fost utilizat ca solvent n-hexan în cantitate de 1 ml, în care s-a adăugat proba în cantitate de 2-5 mg. Amestecul s-a realizat într-un recipient de probe cu volum de 2 ml. Au fost parcurse următoarele etape:

- Dizolvare în solvent prin utilizarea unei băi ultrasonice, în 2 cicluri de 30 minute fiecare;
- Soluția rezultată a fost centrifugată pentru 5 minute la o turație de 3500 rot/min;
- Partea superioară a fost transferată în recipient de probe nou din care 2 μ l au fost injectați în Gaz Cromatograf.

II.2) Analiza Instrumentală

Compușii rezultați prin extracția în solvent din proba supusă studiului au fost analizați prin sistemul cuplat Gaz Cromatograf-Spectrometru de Masa reprezentat schematic în **Figura 1**. Cromatograful de Gaze utilizat a fost modelul GC Trace Ultra (Thermo Electron Corporation) în următoarele condiții de lucru:

Coloana: Capilară de lungime 30m, diametru interior 0.25 mm, faza staționară Dimetilpolixiloxan (5% fenil), grosime strat faza 0.25 μ m;

Program de temperatură coloana: T(inițial) = 90 $^{\circ}$ C (1 min) urcare la 120 $^{\circ}$ C (cu 10 $^{\circ}$ C/min) apoi urcare la 325 $^{\circ}$ C (cu 6 $^{\circ}$ C/min) și menținere pentru 30 minute la această temperatură.

Temperatura injector: 250 $^{\circ}$ C;

Temperatura interfața GC/MS: 325 $^{\circ}$ C;

Eluent: Helium la un debit de 1.5 ml/min

Dupa separarea cromatografică eluanții au fost introduși în Spectrometru de Masa Polaris Q (Thermo Electron Corporation) care a funcționat în următoarele condiții:

Sursa de ioni: impact electronic; T=250 $^{\circ}$ C.

Energie electroni: 70 eV;

Emisie: 300 μ A;

Inregistrare spectre: Baleaj complet 50-800 Daltoni;

Identificare compușilor s-a făcut prin următoarele procedee: a) prin comparare cu spectrele din biblioteca NIST; b) în lipsa spectrelor din biblioteca prin interpretarea spectrelor pe baza regulilor de fragmentare moleculară sub impact electronic.

Abundența ionilor de tip M^+ și f^+ separați de către selectorul de masă (spectrometru de masă), care provin din aceeași moleculă M^0 , separata în coloana capilară a cromatografului, reprezintă spectrul de masă a compusului și se utilizează pentru identificarea structurală.

II.3) Specificul markerilor moleculari detectați

Identificarea și distribuția n-alkanilor din materialul pictural

Spectrele de masă a compușilor n-alcani conțin ioni f_i^+ cu masa corespunzător formulei C_nH_{2n+2} (57, 71, 85, 99, ...) având o diferență între semnale de 14 Daltoni. Semnalul corespunzător ionului molecular lipsește. Numărul total de atomi C al compusului se obține din timpul de eluție cromatografică iar numărul de atomi n_i din fiecare fragment provenit din n-alcani se obține după formula: $n_i = (f_i - 1)/14$.

Spectrul de masă pentru compusul n-alkan cu numărul de atomi C egal cu 29, detectat în lucrare « Năsterea Domnului », este prezentat în **Figura 2**.

Alcanii normali (n-alkanii) din materiale picturale pot avea două surse^{5,21}:

- a) Produse naturale, cum este ceara de albine;
- b) Materiale sintetice cum sunt parafinele petroliere.

Distribuția individuală a fiecărui component este specifică sursei. Numărul de atomi de carbon se situează în intervalul $C_{15}-C_{35}$ cu distribuție par/impar specifică^{4,21,22,23}.

Alcanii detectați în probele studiate se situează în intervalul $n = 16-43$ cu o distribuție de intensități specifică materialului utilizat în lucrările picturale. Materialele picturale care conțin n-alcani sunt parafinele și ceara de albine. În cazul parafinelor distribuția alcanilor este în intervalul 21-43 (atât numere pare cât și impare) cu maxim la 29 sau 31 depinzând de sursă. Dacă alcanii provin din ceara de albine ei au o distribuție în intervalul 23-31 cu intensități semnificative la numere impare, cu maxim la $n=27$.

Identificarea și măsurarea acizilor grași

Specificul spectrului de masa al acizilor grași constă în aceea că prezintă ioni fragment f_i^+ corespunzător formulei $\text{COOHC}_k\text{H}_{2k}$, unde k este numărul atomilor de C adiacenți grupului COO. Ionii se găsesc la numerele de masă 59, 73, 87, 101,... pastrând diferența de 14 Daltoni. Ionul de bază apare pentru k egal cu 3 (m/z 87). Ionul molecular M^+ corespunde formulei $\text{COOC}_{n-1}\text{H}_{2(n-1)+2}$ unde n este numărul total de atomi C din componența acidului. Numărul de atomi C din acid este dat de relația $(M-32)/14$ iar numărul de atomi din fragmentul f_i este dat de $(f_i-31)/14$.

În esență materialul pictural este constituit din pigmenți legați de un liant de tip grăsime. Liantul utilizat pentru efectuarea picturilor de regula conține amestecuri de grasimi de origine animală sau vegetală. Compușii chimici de tip acizi grași detectați în probe de material pictural pot fi de o mare diversitate structurală și constituie o importantă amprentă a autorului. În acest sens detecția acizilor cu 16 atomi de carbon (acidul palmitic) și cu 18 atomi C (acidul stearic) constituie un punct important al investigației^{24,25}. Raportul C16/C18 la proba studiată este 1.6 specific pentru acizii proveniți din uleiul de in.

Spectrul de masa al acidului gras cu 18 atomi de carbon (Acidul stearic) detectat în proba din pictura «Nașterea Domnului» este prezentat în **Figura 3**. Detectarea concomitentă a n-alkanilor și a acizilor este vizualizată în **Figura 4** care reprezintă cromatograma GC/MS din materialul provenit din opera lui Grigore Ranite prin înregistrarea ionului m/z 85 și respectiv a ionului m/z 87.

Identificarea și distribuția structurală a esterilor proveniți din ceara de albine

Ceara de albine conține esteri superiori cu numărul de atomi de carbon într-un domeniu de volatilitate foarte larg. Materialele picturale care conțin ceara de albine au ca și compuși majoritari esteri cu numărul de atomi de carbon n în intervalul 32-50, cu intensități semnificative numai la numere pare^{5,6}.

Ionii caracteristici utilizați pentru identificarea și cuantificarea esterilor sunt: ionul molecular (M^+) și ionii fragment f_1^+ ($\text{R}_1\text{CO}^+\text{HOH}$) și f_2^+ (CO^+OR_2). Pe baza acestor ioni se pot calcula numărul total n de atomi C, numărul de atomi n_1 de atomi C din partea acid și numărul de

65

atomi n_2 de atomi din partea alcool al esterului, astfel : $n = (M-32)/14$, $n_1 = (f_1-33)/14$ și respectiv $n_2 = (f_2-45)/14$. Spectrul de masă pentru esterul cu masa moleculara $M=648$, ($n=44$), detectat în proba studiată este prezentat în **Figura 5**.

Pe baza măsurătorilor GC-MS a fost determinată distribuția esterilor în funcție de numărul de atomi de carbon n precum și distribuția structurală (numarul de atomi C in partea de acid n_1 si in partea de alcool n_2) pentru fiecare compus. Ionii utilizați pentru identificarea și cuantificarea esterilor în domeniul numărului de atomi de carbon n din domeniul 32-50 sunt prezentați în **Tabelul 1**.

Detecția n-alcanilor cu n in domeniul 22-43 și a esterilor în domeniul 32-50 la o proba colectata din icoana lui Grigore Ranite « Nașterea Domnului » este prezentată în **Figura 6**. Distribuția cantitativă și structurală a esterilor obținuți din proba investigată este prezentată în **Tabelul 2** și respectiv în **Figura 7**.

Măsurătorile bazate pe distribuția esterilor permit stabilirea structurii materialului pictural cu precizie, purtând și amprenta originii produsului ceara de albine. In corelare cu datele legate de distribuția n-alcanilor se poate selecta cu precizie dintre alternativele: ceara de albine, parafine sau amestec ale acestora. Rapoartele cantitative între acizii grași detectați permit identificarea originii uleiului utilizat in obținerea materialului pictural. Masuratorile efectuate pe cele trei categorii de markeri moleculari permit atribuirea sau nu a unei lucrari pictorului Grigore Ranite.

Metoda utilizată este robustă și permite efectuarea masuratorilor propuse dintr-o singură injecție. Metoda necesită o cantitate de probe foarte mică. Determinările se fac pentru compuși aflați într-un interval de volatilitate mare.

III) Principalele avantaje ale acestei invenții

- Realizează separarea markerilor moleculari existenți in matricea foarte complexa a materialelor picturale, prin utilizarea coloanelor cromatografice capilare;
- Compușii sunt identificați cu precizie pe baza spectrelor de masa și a timpului de reținere cromatografica;
- Sunt detectati concomitant trei categorii de markeri molecular, utilizați direct in caracterizarea materialului: n-alcani, acizi grași și esteri superiori.

- Pe baza rezultatelor obținute se poate atribui materialul pictural autorilor operelor artistice.

IV) Principalele elemente distincte față de stadiul cunoscut al metodelor sunt următoarele:

-Nu sunt cunoscute alte lucrări care să analizeze markerii moleculari din materialul pictural utilizat de artistul Grigore Ranite;

- Metoda prelucrează o cantitate foarte mică de probă, 2-5 mg;

- Analiza se realizează utilizând o singură injecție de probă;

- Sunt detectați și măsurați compuși într-un domeniu larg de volatilitate, temperatura de fierbere fiind între 150 și 750 °C.

- Compușii detectați se găsesc în domeniul de masă moleculară larg, între 142 și 732 Daltoni.

- Măsurarea esterilor superiori se face cu precizie suficientă pentru a selecta compușii care provin din acidul C₁₆ față de cei care provin din acidul C₁₈ (masa moleculară și timpul de eluție fiind același).

- Sunt obținute rezultate concomitente pe trei grupe de compuși markeri care permit prin corelare caracterizarea cu precizie a materialului pictural.

V) Concluzii asupra lucrărilor semnate Grigore Ranite

- Raportul acizilor grași C₁₆/C₁₈ este de 1.63 fapt ce conduce la concluzia că în materialul pictural a fost utilizat ulei vegetal de tip ulei de in.

- Distribuția hidrocarburilor în intervalul C₁₆-C₄₀ este în acord cu prezența concomitentă materialelor de tip parafine extrase din produse petroliere precum și a hidrocarburilor din ceară de albine. În produsele petroliere n-alkanii sunt distribuiți fără discriminare între valorile par-impar (n în domeniul n = 21-43, cu maxim la 29) dar în cazul produsului ceara de albine hidrocarburile apar numai la numere pare (n în domeniul 23- 31, cu maxim la 27)

- Distribuția esterilor detectați în intervalul n = 32-50 este proprie pentru ceara de albine.

- Datele obținute pe baza distribuției amănunțite a markerilor moleculari esterii superiori (interval n, abundența pe acidul de proveniență) poate face distincție între autori care folosesc ceara de albine dar de proveniență diferită.

- Liantul utilizat de pictorul Grigore Ranite constă dintr-un amestec de ulei de in, ceară de albine și parafine.

VI) Validarea metodei

a) Calibrare. Sistemul GC-MS este calibrat săptămânal pentru detectarea precisă a maselor ionice, în intervalul de lucru de 50-650 unități atomice de masă. Se folosesc în acest scop substanțe etalon specifice.

b) Specificitate. Compusii prezenți în probe sunt detectați prin măsurarea ionilor specifici. Pentru **n-alcani** confirmarea se face prin detectia ionilor din seria C_nH_{2n+1} adică seria 57, 71, 85,...M-15. Numărul total **n** de atomi **C** din componența compusului se determină din timpul de eluție. Pentru **acizii grași** se face identificarea pe baza detectării ionilor fragment de tipul $HOCO-(CH_2)_n$ (seria 59, 73, 87, 101....M-15) și pe baza ionului molecular M^+ . Esterii superiori rezultați din **ceara de albine** sunt detectați pe baza ionului molecular M^+ și a fragmentelor de tip f_1^+ , R_1-CO^+H-OH și f_2^+ , CO^+OR_2 .

c) Sensibilitatea. Sensibilitatea metodei s-a calculat pentru o cantitate minimă de compus pentru care se obține raportul semnal/zgomot = 3. Limita de detecție obținută este de 10 ng.

d) Reproducibilitatea. Reproducibilitatea a fost obținută prin repetabilitatea măsurătorilor. Măsurarea unei probe s-a făcut în mod repetat atât în cursul unei zile cit și în perioade de peste 30 de zile. De fiecare dată au fost detectați compușii din cele trei clase având deviația standard relativă în limita $\pm 10\%$.

Mulțumiri

Invenția a fost realizată în cadrul proiectului de cercetare: "Elaborarea de metodologii complexe privind atribuirea și autentificarea de picturi din Evul Mediu și Perioada Modernă timpurie aparținând Patrimoniului Cultural", proiect număr 53-PCCDI/2018, cod: PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0812 finanțat de Ministerul Educației și Cercetării

VII) Bibliografie

- (1) N. Iorga, *Inscripții din bisericile României*, Ed. Minerva, vol. I, București, 1905.
- (2) A. Dumitran, 2010, *Un zugrav de elită: Grigore Ranite*, Annales, Universitatis Apulensis Series Historica, 14/I, p.83-98
- (3) M. Porumb, *Un veac de pictură românească din Transilvania*, Secolul XVIII, Ed. Meridiane, București, 2003

- (4) C. Marinach, M. C. Papillon, C. Pepe, *Identification of binding media in works of art by gas chromatography–mass spectrometry*, *Journal of Cultural Heritage*, 5 (2004) 231–240
- (5) M. Regert, J. Langlois, S. Colinart, *Characterisation of wax works of art by gas chromatographic procedures*, *Journal of Chromatography A*, 1091 (2005) 124–136
- (6) Al. Andreotti, I. Bonaduce, M. P. Colombini, G. Gautier, F. Modugno, and Erika Ribechini, *Combined GC/MS Analytical Procedure for the Characterization of Glycerolipid, Waxy, Resinous, and Proteinaceous Materials in a Unique Paint Microsample*, *Anal. Chem.* 78 (2006) 4490-4500
- (7) 16) S. Wei , Q. Mab, M. Schreiner, *Scientific investigation of the paint and adhesive materials used in the Western Han dynasty polychromy terracotta army, Qingzhou, China*, *Journal of Archaeological Science* 39 (2012) 1628-1633
- (8) M. V. Russo and P. Avino, *Characterization and Identification of Natural Terpenic Resins employed in “Madonna con Bambino e Angeli” by Antonello da Messina using Gas Chromatography–Mass Spectrometry*, *Chemistry Central Journal* 6:59 (2012) 1-10
- (9) O. Chiantore, C. Riedo, D. Scalarone, *Gas chromatography – mass spectrometric analysis of products from on-line pyrolysis/silylation of plant gums used as binding media*. *Inter J Mass Spectrom* 284 (2009) 35–41.
- (10) J. Peris-Vicente, E. Simó-Alfonso, J.V. Gimeno-Adelantado, M.T. Doménech- Carbó, *Direct infusion mass spectrometry as a fingerprint of protein-binding media used in works of art*. *Rapid Commun Mass Spectrom* 19 (2005) 3463–3467.
- (11) K. Van den Berg, J. J Boon, I. Pastorova, and L.F.M. Spetter, *Mass spectrometric methodology for the analysis of highly oxidized diterpenoid acids in Old Master paintings*. *J. Mass Spectrom* 35 (2000) 512–533.
- (12) J. La Nasa , M. Zanaboni, D. Uldanck, I. Degano, F. Modugno, H. Kutzke, E. S. Tveit, B. T. Casadiego, M. P. Colombini, *Novel application of liquid chromatography/mass spectrometry for the characterization of drying oils in art: Elucidation on the composition of original paint materials used by Edvard Munch (1863-1944)*. *Analytica Chimica Acta*, 896 (2015), 177-189
- (13) E. Kouloumpi, G. Lawson, V. Pavlidis, *The contribution of gas chromatography to the resynthesis of the post-Byzantine artist’s technique*, *Anal Bioanal Chem* 387 (2007) 803–812

- (14) E.J. Llorent-Martínez, A. Domínguez-Vidal, R. Rubio-Domene, M.I. Pascual-Reguera, A. Ruiz-Medina, M.J. Ayora-Cañada, *Identification of lipidic binding media in plasterwork decorations from the Alhambra using GC-MS and chemometrics: Influence of pigments and aging*, *Microchemical Journal* 115 (2014) 11–18
- (15) E. Manzano, L.R. Rodríguez-Simón, N. Navas, R. Checa-Moreno, M. Romero-Gámez, L.F. Capitan-Vallvey, *Study of the GC-MS determination of the palmitic-stearic acid ratio for the characterisation of drying oil in painting: La Encarnación by Alonso Cano as a case study*, *Talanta* 84 (2011) 1148–1154
- (16) A. Lluveras-Tenorio, F. Parlanti, I. Degano, G. Lorenzetti, D. Demosthenous, M.P. Colombini, K.L. Rasmussen, *Spectroscopic and mass spectrometric approach to define the Cyprus Orthodox icon tradition - The first known occurrence of Indian lac in Greece/Europe*, *Microchemical Journal* 131 (2017) 112–119
- (17) M. Abdel-Ghani, H.G.M. Edwards, R. Janaway, B. Stern, *A Raman microscopic and gas chromatographic-mass spectrometric study of two 19th century overlapping Coptic icons of Anastasy Al-Romi*, *Vibrational Spectroscopy* 48 (2008) 69–75
- (18) K. Romanus, W. Van Neer, E. Marinova, K. Verbeke, A. Luypaert, S. Accardo, I. Hermans, P. Jacobs, D. De Vos, M. Waelkens, *Brassicaceae seed oil identified as illuminant in Nilotic shells from a first millennium AD Coptic church in Bawit, Egypt*, *Anal Bioanal Chem* 390 (2008) 783–793
- (19) I. Bonaduce, M. Cito, M. P. Colombini, *The development of a gas chromatographic-mass spectrometric analytical procedure for the determination of lipids, proteins and resins in the same paint micro-sample avoiding interferences from inorganic media*, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 5931–5939
- (20) O. Katsibi, R. F. Howe, *Characterisation of the transparent surface coatings on post-Byzantine icons using microscopic, mass spectrometric and spectroscopic techniques*, *Microchemical Journal* 94 (2010) 14–23
- (21) I. Karapanagiotis, S. Wei, Sister Daniilia, E. Minopoulou, D. Mantzouris, E. Rosenberg, S. Stassinopoulos, *Analytical investigation of the painting techniques used in icons of the Cretan school of iconography*, 9th International Conference on NDT of Art, Jerusalem Israel, 25-30 May 2008

- (22) A. Sánchez, J. A. Tuñón, D. J. Parras, M. Montejo, M. A. Lechug, B. Ceprián, M. Sotoa, Á. Luque, *MRS, EDXRF and GC-MS analysis for research on the ritual and funerary areas of Cerro de los Vientos (Baeza, Jaén, Spain). Native and Eastern Mediterranean influences*, *Journal of Archaeological Science: Reports* 28 (2019) 102026
- (23) G. Chiavari and S. Prati, *Analytical Pyrolysis as Diagnostic Tool in the Investigation of Works of Art*, *Chromatographia* 58 (2003), 58, 543-554
- (24) P. Arjonilla, A. Domínguez-Vidal, E. Correa-Gómez, R. Rubio-Domene, Anna Lluveras-Tenorio, María José Ayora-Cañada, Maria Perla Colombini, *Characterization of organic materials in the decoration of ornamental structures in the Alhambra monumental ensemble using gas-chromatography/mass spectrometry (GC/MS)*, *Microchemical Journal* 140 (2018) 14–23
- (25) A. Lattuati-Derieux, S. Gomes, S. Tirat, S. Thao-Heu, J. P. Echard, *New insights into molecular evolution of oil/colophony varnishes: towards Pyrolysis- Gas Chromatography/Mass Spectrometry based quantitation*, *Evolution of oil/colophony varnishes*, *e-Preservation Science (e-PS)*, 11(2014), 54-63, Conference on NDT of Art, Jerusalem Israel, 25-30 May 2008

Tabel 1. Ionii de diagnosticare pentru identificare esteri

M	n	(n₁,n₂)	f₁	f₂	(n₁,n₂)	f₁	f₂
480	32	(16,16)	257	269	(18,14)	285	241
508	34	(16,18)	257	297	(18,16)	285	269
536	36	(16,20)	257	325	(18,18)	285	297
564	38	(16,22)	257	353	(18,20)	285	325
592	40	(16,24)	257	381	(18,22)	285	353
620	42	(16,26)	257	409	(18,24)	285	381
648	44	(16,28)	257	437	(18,26)	285	409
676	46	(16,30)	257	465	(18,28)	285	437
704	48	(16,32)	257	493	(18,30)	285	465
732	50	(16,34)	257	521	(18,32)	285	493

Notății: **M** = masa moleculară; **n** = numărul de atomi **C** din moleculă; **n₁** = numărul de atomi **C** din partea acid; **n₂** = numărul de atomi **C** din partea alcool; **f₁** = masa fragmentului **R₁CO⁺H(OH)**; **f₂** = masa fragmenrului **CO⁺OR₂**.

52

Tabel 2. Distribuția esterilor din lucrarea lui Grigore Ranite: «Nașterea Domnului».

Nr	n	M	(16,R)+(18,R)	(16,R)	(18,R)	(16,R)/(18,R)
1	32	480	17	11.97	5.03	2.38
2	34	508	25	17.75	7.24	2.42
3	36	536	26	12.95	13.05	0.99
4	38	564	36	27.54	8.46	3.25
5	40	592	2727	2707.91	19.09	141.85
6	42	620	1810	1665.38	144.62	11.51
7	44	648	1370	1362.60	7.39	184.38
8	46	676	2472	2403.52	68.47	35.10
9	48	704	1383	1302.23	80.77	16.12
10	50	732	133	87.86	45.14	1.94

Notații: **n** = numărul de atomi **C** din compus ; **M** = masa moleculară, **(16,R)** = abundența esterului provenit de la acidul **C₁₆**; **(18,R)** = abundența esterului provenit de la acidul **C₁₈**; **(16,R)/(18,R)** = raportul abundențelor.

VIII) REVENDICĂRI

1. Metoda de identificare și cuantificare de marcheri molecularii din materiale picturale este caracterizată prin aceea că realizează condiții de separare moleculară și identificare a structurilor pentru o gamă largă de compuși având masa moleculară în intervalul 150-750 Daltoni.
2. Procedeu de identificare și cuantificare de marcheri molecularii, conform cu revendicarea 1, descrie o metoda de extracție a compușilor din proba colectată din materialul pictural, astfel încât să se utilizeze o cantitate foarte mică de probă, fără a se deforma structura materialului.
3. Metoda de identificare și cuantificare de marcheri molecularii din materiale picturale, conform cu revendicarea 1 și 2 este caracterizată prin aceea că permite identificarea și cuantificarea de compuși cuprinși în 3 clase structurale: alcani normali, acizi grași și esteri superiori. **Alcanii normali** sunt identificați pe baza ionilor f_i^+ cu masa corespunzătoare formulei C_nH_{2n+2} (57, 71, 85, 99, ...) având o diferență între semnale de 14 Daltoni. **Acizii grași** sunt identificați pe baza ionilor fragment f_i^+ corespunzător formulei $COOHC_kH_{2k}$ care se situează la numerele de masă 59, 73, 87, 101, ... păstrând diferența de 14 Daltoni precum și pe baza ionului molecular M^+ care corespunde formulei $COOC_{n-1}H_{2(n-1)+2}$, unde n este numărul total de atomi C din componența acidului. Ionii caracteristici utilizați pentru identificarea și cuantificarea **esterilor** sunt: ionul molecular (M^+) și ionii fragment f_1^+ (R_1CO^+HOH) și f_2^+ (CO^+OR_2). Pe baza acestor ioni se pot calcula numărul total n de atomi C, numărul de atomi n_1 de atomi C din partea acid și numărul de atomi n_2 de atomi din partea alcool al esterului.
4. Metoda de prelucrare a probelor și identificarea de marcheri moleculari, conform cu revendicarea 1, 2 și 3 nu denaturează structura originală a compușilor și permite realizarea corelației material-autor.

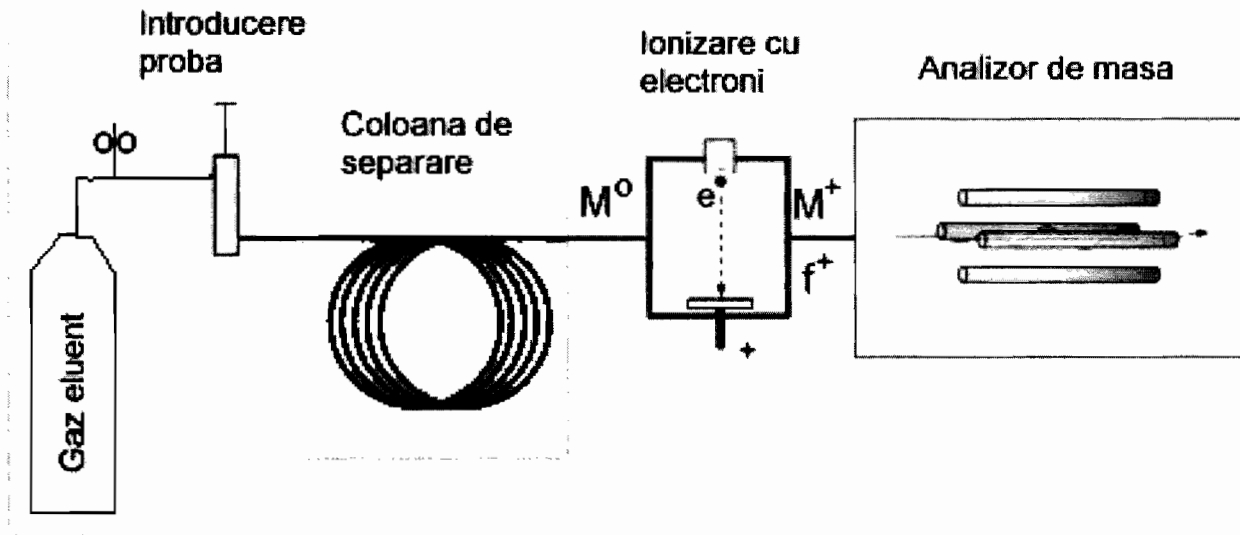
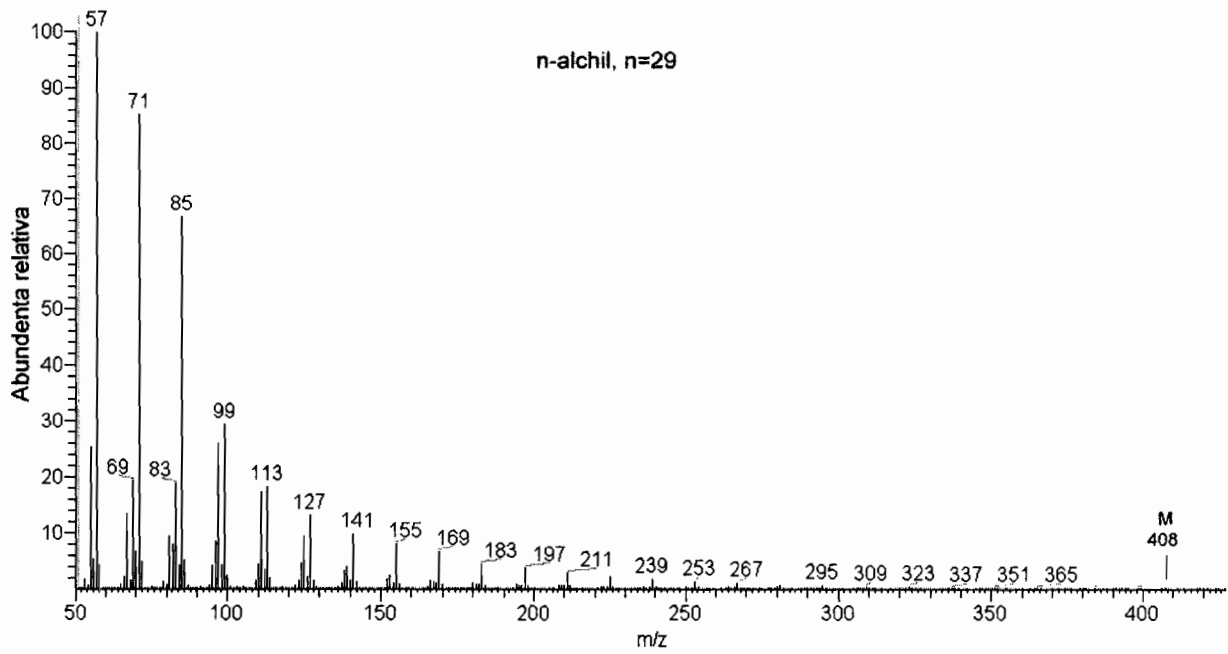


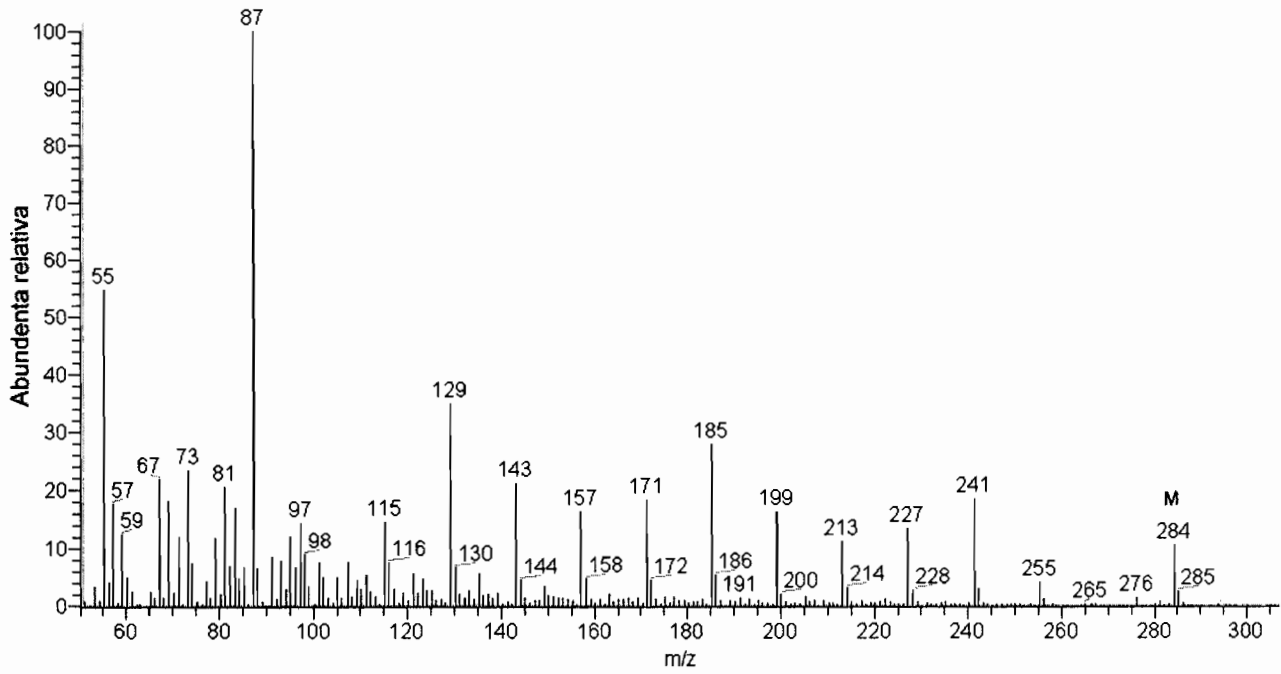
Figura 1

Schema bloc a sistemului analitic utilizat: cuplaj Gaz Cromatograf- Spectrometru de Masa. Semnificația simbolurilor este : M^0 reprezintă molecule neutre, M^+ molecule ionizate pozitiv și f^+ fragmente ionice rezultate din ionul molecular în urma impactului electronic.

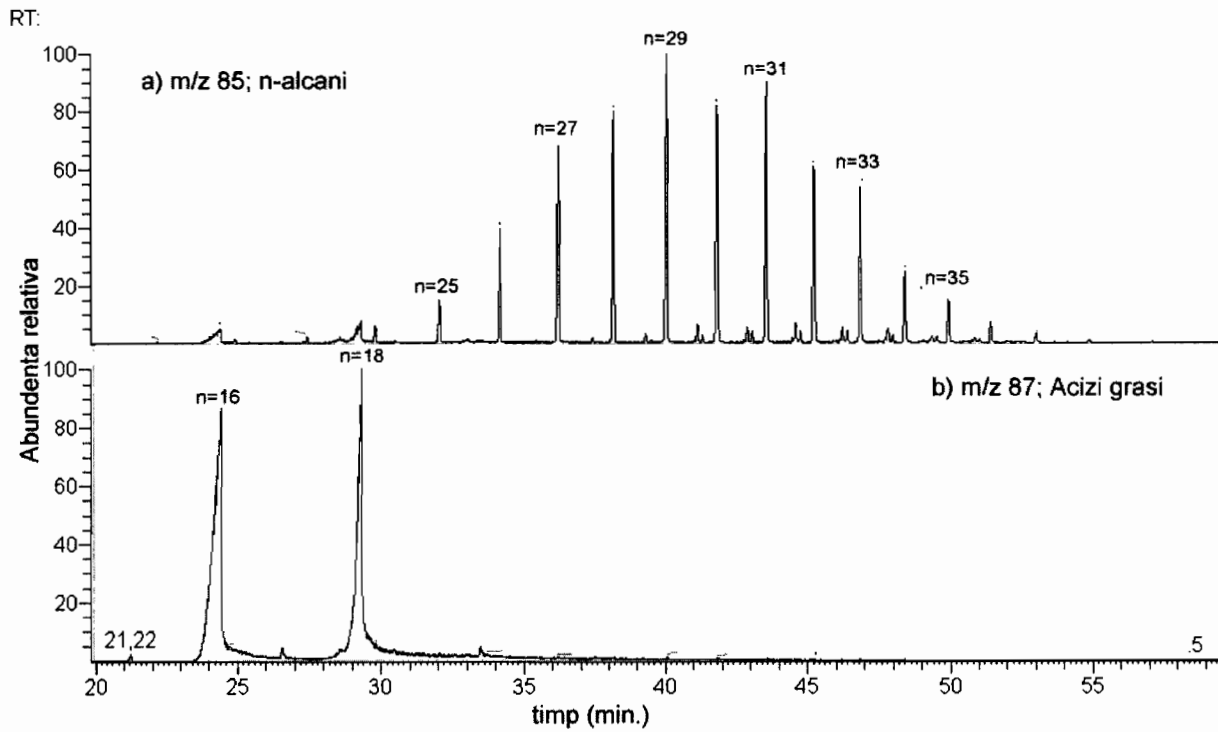
55

**Figura 2**

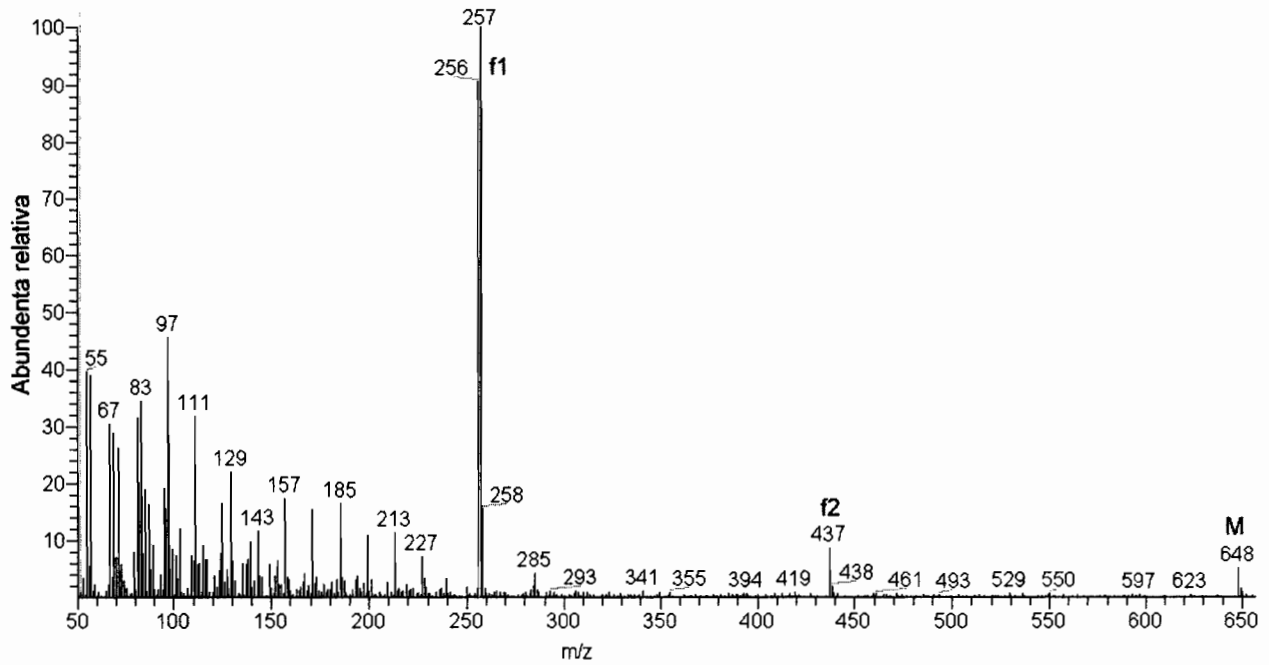
Spectrul de masă pentru compusul n-alkan cu $n=29$ din proba studiată. Fragmentele specifice sunt de tipul C_nH_{2n+1} (seria de ioni este 57, 85, 71, 99... cu diferența de 14 unități între fragmente)

**Figura 3**

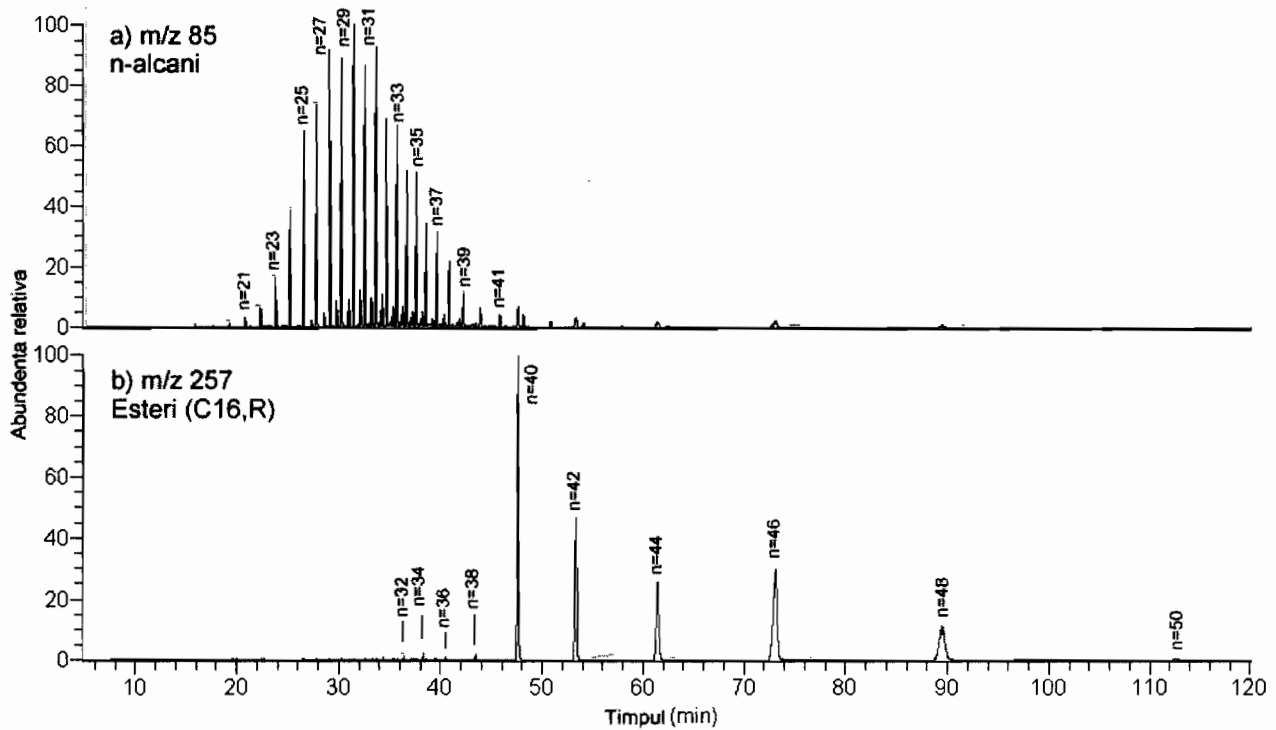
Spectrul de masă al acidului cu $n = 18$ (Acidului Stearic). Ioni pentru identificare sunt : 1) Ionul molecular M^+ ; 2) Ioni fragment, f_i^+ din seria : 45, 59, 73, 87.....cu diferenta de masa de 14 unitati. Ionul de baza este 87. Numarul de atomi C din acid este $(M-32)/14$ iar numarul de atomi n_i din fragmentul f_i este $(f_i-31)/14$

**Figura 4**

Cromatograma GC-MS, obținută din pictura « Nașterea Domnului », pentru vizualizarea compușilor caracteristici: a) n-alcani, m/z 85; b) acizi grași, m/z 87.

**Figura 5**

Spectrul de masă al esterului $n=44$ ($M=648$) detectat în proba recoltată din opera lui Grigore Ranite «Nașterea Domnului».

**Figura 6**

Cromatograma GC-MS, pe bază de ioni selectați, pentru proba din lucrarea lui Grigore Ranite «Nașterea Domnului»; a) m/z 85, detecția alcanilor normali ($n=C_{21}-C_{43}$); b) m/z 257 (f_1^+), detecția esterilor ($n=32-50$) de tip (C16,R).

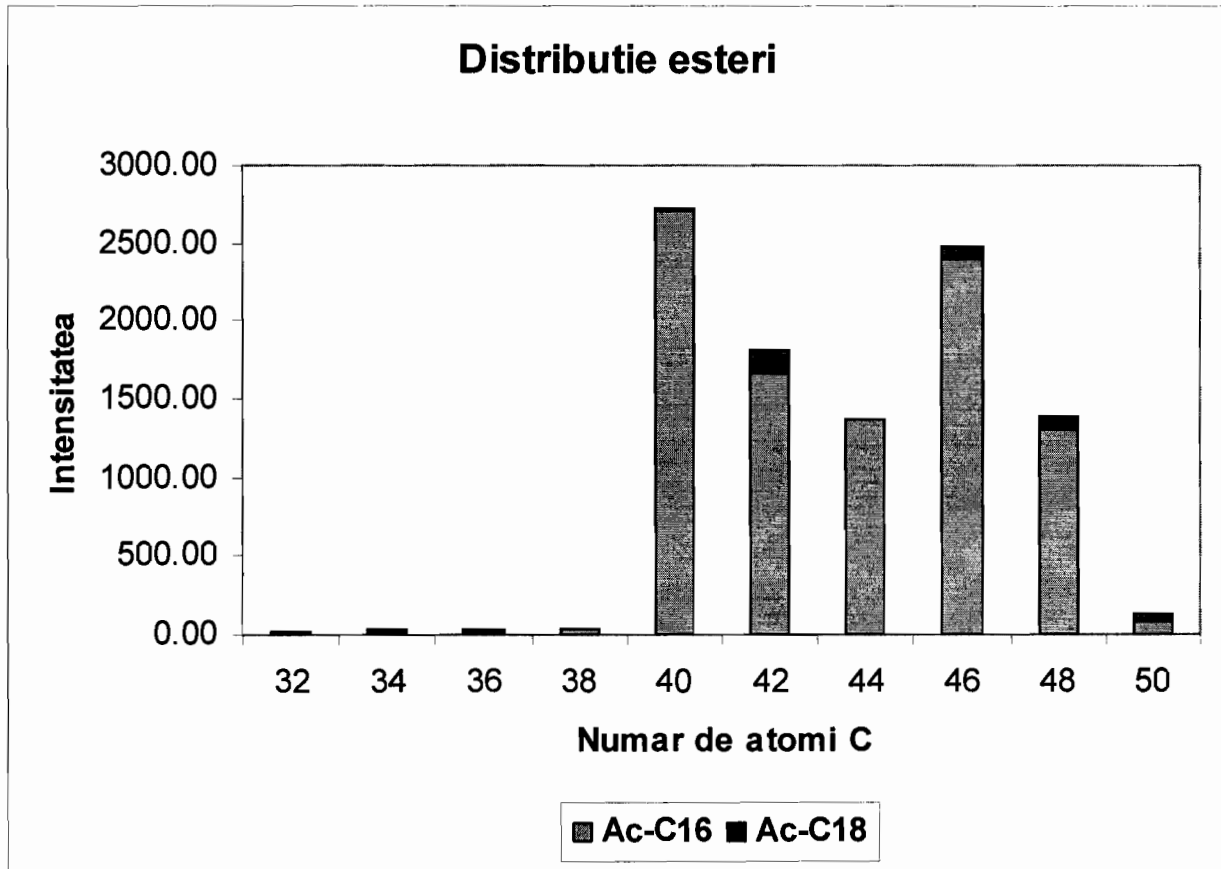


Figura 7

Distribuția esterilor superiori detectați în lucrarea lui Grigore Ranite «Nașterea Domnului» în domeniul de mase moleculare $M = 480-732$ ($n = 32-50$).