調査・資料

TLC と GC/MS を用いたテルペノイド系ガムベースの識別法

(平成 22 年 4 月 6 日受理)

秋山卓美^{1,*} 林 歩美² 山崎 壮¹ 多田敦子¹
杉本直樹¹ 尹 永淑² 功刀 彰²
棚元憲一^{1,3} 河村葉子¹

Identification Methods of Terpenoid Gum Bases Using TLC and GC/MS

Takumi AKIYAMA^{1,*}, Ayumi HAYASHI², Takeshi YAMAZAKI¹, Atsuko TADA¹,
Naoki SUGIMOTO¹, Young Sook YUN², Akira KUNUGI², Kenichi TANAMOTO^{1,3}
and Yoko KAWAMURA¹

¹ National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo
158-8501, Japan; ² Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences:

1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan;

³ Present address: Musashino University: 1-1-20 Shimmachi,
Nishitokyo, Tokyo 202-8585, Japan;

* Corresponding author

Simple chromatographic methods were applied to terpenoid resins used as gum bases. Five triterpenoid resins, mastic, dammar resin, olibanum, benzoin gum and elemi resin, and two diterpenoid resins, rosin and copal resin, were separated with normal-phase TLC. Characteristic patterns were observed for all resins. Different samples of the same resin gave identical patterns. The TLC method is a candidate for a simple identification test for terpenoids resins. Samples were then methyl-esterified and analyzed with GC/MS. All resins exhibited characteristic chromatograms for total ion current. Major constituents of all resins were detected. Unique constituents that can be used as indicators were found in every resin. Therefore, GC/MS of methyl-esterified terpenoid resins is a valuable identification method.

(Received April 6, 2010)

Key words: ガムベース gum base; テルペノイド terpenoid; 薄層クロマトグラフィー TLC; ガスクロマトグラフィー質量分析法 GC/MS; 食品添加物 food additive

はじめに

既存添加物名簿^{*1}に記載されているガムベースの中には、いまだ国の成分規格が策定されていないものが多い。第7版食品添加物公定書でダンマル樹脂の規格が設定されたのみで、8版では新規収載された品目はない¹⁾。既存添加物名簿収載品目リストの基原・製法・本質には主成分等が簡単に記載されているが、含有成分が不明確なもの、あるいは主成分の記載はあるがその化学構造は不詳なものが少なくない。最も基本的情報である構成成分が不明確であるために、成分規格の対象とする成分が決まらないこと

や、含有成分の試験法の検討が不十分であることが、成分規格策定の障壁になっている。そこで、これらのガムベース品目の成分をクロマトグラフィー手法で分離・検出することにより体系的に品目識別ができれば、国の成分規格の確認試験に応用できる。

既存添加物のガムベースは、原料が植物、動物、鉱物、石油と多岐にわたるが、構成成分の観点から、エステル系ワックス(ろう)、炭化水素系ワックス(ろう)、テルペノイド系樹脂に大別できる。エステル系ガムベースと炭化水素系ワックスについては複数の品目を同一の手法で分析した体系的分析の報告^{3), 4)}があるが、テルペノイド系樹脂についてはそのような体系的分析法の検討がなされていない。

テルペノイド系ガムベースは低分子のテルペノイドを主成分とする天然樹脂であるが、トリテルペノイドを多く含有するとされている品目として、マスティック、ダンマル樹脂、ニュウコウ、エレミ樹脂などがあり、ジテルペノイド

* 連絡先 akiyamat@nihs.go.jp

¹ 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野 1-18-1

² 東京薬科大学: 〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1

³ 武蔵野大学: 〒202-8585 東京都西東京市新町 1-1-20

^{*1} 厚生省告示第 120 号 “既存添加物名簿” 平成 8 年 4 月 16 日 (1996)

を多く含有するとされている品目として、ロシン、コーパル樹脂などがある。また、2007 年まで^{*2} 既存添加物名簿に収載されていた樹脂として、トリテルペノイドを含有するとされているベンゾインガムがある。これらのテルペノイド系樹脂はすべて海外からの輸入であるが、工業製品、画材、一般香料、生薬などとして古くから国際的に流通している。したがって、流通している樹脂がさまざまな用途に使われていると推測され、用途の異なる同一樹脂名の製品の樹脂成分の成分本質はほぼ類似しており、主成分の純度、構成比が異なるのみだと考えられる。

テルペノイド系樹脂の成分研究としては、美術品の鑑定研究として画材用途のテルペノイド樹脂のガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) を用いた分析法と主要構成成分が報告されている^{5)~12)}。しかし、それらは個別の樹脂についての研究報告であり、分析条件が異なっている。テルペノイド系樹脂の含有成分を同一条件で体系的に比較分析した報告はほとんどない。そこで、テルペノイド系ガムベースの成分を共通の条件で分離できるかどうか検討するため、日本食品添加物協会から既存添加物として提供されたテルペノイド系ガムベース製品および既存添加物と同様の製品名を持つ試薬、画材用樹脂、香料用樹脂を用いて、それらの成分組成を分析した。まず、簡便な分析法として薄層クロマトグラフィー (TLC) を検討した。さらに品目ごとに特徴的な指標成分を確認する分析手段を検討した。TLC より分離能が高く、かつ広く普及している方法として HPLC/UV, GC/FID, GC/MS などがあるが、テルペノイド化合物には UV 吸収が弱いものもある一方で、質量分析においては特徴的なフラグメンテーションパターンを与え、混在が予想されるテルペノイド以外の含有成分と区別できる場合が多い。そこで、GC/MS を第二の分析手段として検討した。

実験方法

1. 試料および試薬

テルペノイド系樹脂として以下の試料を入手した。食品添加物製品は日本食品添加物協会より現在入手可能な品目として提供を受けた 4 品目を用いた。また、既存添加物の品目名と同様の製品名を持つ試薬、画材用樹脂、香料用樹脂が国内で市販されている場合には購入して使用した。品目別リストは以下のとおりである。同じ品目の試料には記号を付した。

マスティック：食品添加物 1 製品 (M1)、試薬 (ICN 製) 1 製品 (M2)。

ダンマル樹脂：食品添加物 1 製品 (D1)、試薬 (和光純薬工業(株)製) 1 製品 (D2)、画材 1 製品 (D3)。

ニューウコウ：一般香料用樹脂 1 製品。

ベンゾインガム：一般香料用樹脂 1 製品。

エレミ樹脂：食品添加物 1 製品。

ロシン：試薬 (和光純薬工業(株)製) 1 製品。

コーパル樹脂：食品添加物 1 製品。

メチルエステル化剤としてトリメチルシリルジアゾメタン (TMSDM, 東京化成(株)製) を使用した。

2. 試料の誘導体化

試料を乳鉢で粉末状にした後秤量し、20 mg/mL となるようにメタノールを加えて攪拌した。3,000 rpm, 20°C で 20 分間遠心し、その上清をフィルターを通してメタノール抽出液とした。メタノール抽出液 1 mL を減圧乾固し、メタノール 0.5 mL を加えて溶かし、TMSDM を 0.1

Fig. 1. TLC profiles of triterpenoid resins

A: mastic M2, B: dammar resin D2, C: olibanum (nyuko), D: benzoin gum, E: elemi resin

Fig. 2. Comparisons of TLC profiles among samples of the same triterpenoid resins

A: mastic, B: dammar resin

^{*2} 食安発第 0803005 号 “食品衛生法施行規則の一部を改正する省令、食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件及び既存添加物名簿の一部を改正する件について” 平成 19 年 8 月 3 日 (2007)

Fig. 3. TLC profiles of diterpenoid resin samples

A: rosin, B: copal resin

mL 加え、室温で 30 分放置した。これをメチルエステル化試料とした。

3. TLC 分析

メタノール抽出液 10 μ L を TLC 板にスポットし、以下の条件で展開して呈色を行った。

TLC 板: Merck 社製 HPTLC glass plate silica gel 60 F₂₅₄ (10 cm in length)

展開溶媒 1: エーテル-ヘプタン混液 (6:5)

展開溶媒 2: エーテル-ヘプタン混液 (2:1)

検出: 10% H₂SO₄ を噴霧後に加熱呈色

4. GC/MS 分析

メチルエステル化試料を下記の条件で分析した。

装置: GCMS-QP5050A ((株)島津製作所製)

操作条件: カラム, DB-1MS (30 m $\times$ 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μ m, J & W Scientific 社製); キャリヤーガス流量, 2.4 mL/min; 注入口温度, 250°C; カラム温度, 40°C (1 min) $\rightarrow$ (20°C/min) $\rightarrow$ 200°C $\rightarrow$ (10°C/min) $\rightarrow$ 300°C; イオン源温度, 300°C; イオン化エネルギー, 70 eV; 試料注入量, 1 μ L; 試料注入方式, スプリットレス; 測定モード, EI positive スキャン法 (m/z 100~600)。

各ピークの化合物の同定は、マススペクトルのライブラリーデータ (NIST および WILEY) との一致、およびフラグメンテーションパターンと保持時間の文献情報^{5)~12)} との比較によって行った。

結 果

1. TLC 分析

1.1 トリテルペノイド試料

トリテルペノイドを多く含有するとされているマスティック、ダンマル樹脂、ニュウコウ、ベンゾインガム、エレミ樹脂を、食品添加物公定書¹⁾ と Food Chemicals Codex²⁾ においてダンマル樹脂の確認試験で用いられている溶媒 1 を用いて TLC 分析し、各樹脂の成分組成を比較した (Fig. 1)。

Fig. 4. GC/MS total ion current chromatograms of the methyl-esterified samples of triterpenoid resins

A: mastic M2, B: dammar resin D2, C: olibanum, D: benzoin gum, E: elemi resin

マスティックには R_f 0.45 に非常に強い赤色のスポット、 R_f 0.69 の淡紫色のスポット、 R_f 0.81 の淡紫色のスポットが見られた。原点にも強い呈色が見られた。それ以外にも弱いスポットが見られた。ダンマル樹脂には R_f 0.24 に強い赤色のスポット、 R_f 0.30 に赤色のスポット、 R_f 0.42 に青色のスポット、 R_f 0.68 の淡紫色のスポット、 R_f 0.80 の淡紫色のスポットが見られた。原点にも呈色が

Fig. 5. Mass spectra of peaks in GC/MS chromatograms in Fig. 4

A: mastic, retention time (RT)=20.0 min (compounds **8a** or **9a**); B: dammar resin, RT=18.3 min (compound **14a**); C: dammar resin, RT=20.1 min (compound **18**); D: olibanum, RT=20.1 min (compounds **26a** or **27a**); E: benzoin gum, RT=22.0 min (compound **28a**); F: elemi resin, RT=18.3 min (compound **30**).

見られた。ニューコウには淡紫色のスポットが多く見られた。Rf 値は 0.25, 0.32, 0.38, 0.47, 0.57, 0.86, 0.94 であった。原点も褐色を示した。ベンゾインガムは原点の褐色の呈色が強く、Rf 0.09 の紫色のスポット、Rf 0.18 の淡紫色のスポット、Rf 0.32 に褐色のスポット、Rf 0.72 に灰色のスポットが見られた。エレミ樹脂は原点の呈色は弱く、Rf 0.20 に淡紫色のスポット、Rf 0.30 と 0.36 の赤色のスポット、Rf 0.43 の青色のスポット、Rf 0.52 の橙赤色のスポット、Rf 0.65 の黄色のスポットが見られた。

また、マスチック 2 製品およびダンマル樹脂 3 製品を分析したところ、同一品目の製品はほぼ同じパターンを示した (Fig. 2)。

1.2 ジテルペノイド試料

ジテルペノイドを多く含有するとされているロシン、コーパル樹脂を溶媒 1 を用いて TLC 分析したところ、両者は異なるパターンを示し、トリテルペノイド試料のいずれとも異なるパターンであった。しかし、すべてのスポットがスメア状となり、スポットの観察が困難であった。そこで、エーテルとヘプタンの混合比を変更した数種の溶媒を検討したところ、溶媒 2 において多くのスポットが観察できた (Fig. 3)。

ロシンには Rf 0.72 に褐色の非常に強いスポットが見ら

れたほか、Rf 0.21, 0.27, 0.37, 0.43, 0.53, 0.93 に褐色の弱いスポットが見られた。コーパル樹脂には原点から Rf 0.4 までスメア状に赤褐色の呈色が見られ、Rf 0.43, 0.57, 0.69, 0.73 に赤褐色のスポットが見られた。

2. GC/MS 分析

2.1 メチルエステル化トリテルペノイド試料の GC/MS 分析

トリテルペノイド系樹脂であるマスチック、ダンマル樹脂、ニューコウ、ベンゾインガム、エレミ樹脂の各試料を TMSDM によりカルボキシ基をメチルエステル化した後、GC/MS で分析し、構成成分を確認した。まず、トリテルペノイド系樹脂間で TIC (total ion current) クロマトグラムの比較を行った。Fig. 4 に、トリテルペノイドのピークが現れた保持時間 20 分付近を拡大した TIC クロマトグラムを示す。樹脂間で互いに明らかに異なるクロマトグラムが得られた。

次に、樹脂相互の判別のための指標成分となりうる化合物を探索するために、TIC クロマトグラム上の各ピーク成分をマススペクトルのライブラリーデータおよび文献情報との比較によって同定した。主要なピークのマススペクトルを Fig. 5 に示した。

マスチック M2 のメチルエステル化物の TIC クロマト

Fig. 6. Compounds found in mastic and dammar resin and the methyl-esterified compounds

グラムを Fig. 4A に示すが、メチルエステル化試料において同定された化合物は、ピーク保持時間の小さい順に、(8*R*)-3-oxo-8-hydroxy-polypoda-13*E*,17*E*,21-triene (1), (8*R*)-3β,8-dihydroxypolypoda-13*E*,17*E*,21-triene (2), moronic acid methyl ester (3a), oleanonic acid methyl ester (4a), hydroxydammarone I (5) または hydroxydammarone II (6) のいずれかまたはそれらの混合物, oleanonic aldehyde (7), masticdienonic acid methyl ester (8a), isomasticdienonic acid methyl ester (9a), 3-*O*-acetyl-3-epimasticdienonic acid methyl ester (10a), 3-*O*-acetyl-3-epiisomasticdienonic acid methyl ester (11a) であった。各化合物の構造式を Fig. 6 に示した。

マスチックに特異的で判別の指標成分となりうるのは、保持時間 20.0 分と 21.5 分の 2 本のピーク 8a および 9a である。ただし、この 2 本のピークのどちらが 8a で、ど

ちらが 9a であるかは同定できなかった。保持時間 20.0 分のピークのマススペクトルを Fig. 5A に示した。8a または 9a の分子イオンピーク $[M]^+$ である m/z 468 のピークと脱メチルフラグメント $[M-Me]^+$ である m/z 453 のピークが認められた。ダンマル樹脂 (Fig. 4B) とニューコウ (Fig. 4C) にも、保持時間 20 分付近にピーク 18 とピーク 26a または 27a が認められたが、マススペクトルはそれぞれ Fig. 5C と Fig. 5D であり、明らかに Fig. 5A とは異なるスペクトルである。

ダンマル樹脂 M2 のメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 4B に示すが、メチルエステル化試料において同定された化合物は、dammaradienone (12), dammaradienol (13), dammarenolic acid methyl ester (14a), 5 または 6 のいずれかまたは両者, 7, dammarenediol I (15) または dammarenediol II (16) のい

Fig. 7. Compounds found in olibanum, benzoin gum and elemi resin and the methyl-esterified compounds

れかまたはそれらの混合物, ursonic acid methyl ester (**17a**), ursonic aldehyde (**18**), nor- β -amyrone (**19**)であった (Fig. 6). ダンマル樹脂に特異的で判別の指標成分となりうるのは, ピーク **14a** である. マススペクトルを Fig. 5B に示した. $[M-H_2O]^+$ である m/z 454 のピークが認められた. また, ピーク **18** のマススペクトルを Fig. 5C に示した. $[M]^+$ である m/z 438 のピークおよびウルサン型やオレアナン型のトリテルペノイドの特徴である m/z 203 のピークが認められた.

ニューコウのメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 4C に示すが, メチルエステル化試料において同定された化合物は, 9,11-dehydro- α -boswellic acid methyl ester (**20a**) または 9,11-dehydro- β -boswellic acid methyl ester (**21a**) のいずれかまたは両者, 3- α -hydroxy-lup-20(29)-en-24-oic acid methyl ester (**22a**), 3- α -hydroxy-lup-20(29)-en-25-oic acid acetate methyl

ester (**23a**), α -boswellic acid methyl ester (**24a**) または β -boswellic acid methyl ester (**25a**) のいずれかまたは両者, acetyl- α -boswellic acid methyl ester (**26a**) または acetyl-9,11-dehydro- β -boswellic acid methyl ester (**27a**) のいずれかまたは両者であった. 各化合物の構造式を Fig. 7 に示した.

ニューコウに特異的で判別の指標成分となりうるのは, 保持時間 20.1 分のピーク (**24a** または **25a** のいずれかまたはその混合物) である. このピークのマススペクトルを Fig. 5D に示した. $[M]^+$ である m/z 512 のピークおよびウルサン型やオレアナン型のトリテルペノイドの特徴である m/z 218 のピークが認められた.

ベンゾインガムのメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 4D に示すが, メチルエステル化した試料において同定された化合物は, sumaresinolic acid methyl ester (**28a**) (Fig. 7) のみであり, これがベンゾイ

ンガムの判別の指標成分となりうる。このピークのマスペクトルを Fig. 5E に示した。[M]⁺ である m/z 486 のピークおよびウルサン型やオレアナン型のトリテルペノイドの特徴である m/z 203 のピークが認められた。

エレミ樹脂のメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 4E に示すが、メチルエステル化試料において同定された化合物は、 β -amyrin (29), α -amyrin (30) であった (Fig. 7)。これらはいずれも誘導体化を受けていない化合物であり、メタノール抽出液を GC/MS 分析した場合にも検出された。この2つのピークがエレミ樹脂の判別の指標成分となりうる。ピーク 30 のマスペクトルを Fig. 5F に示した。[M]⁺ である m/z 426 のピークおよびウルサン型やオレアナン型のトリテルペノイドの特徴である m/z 218 のピークが認められた。なお、既存添加物名簿ではエレミ樹脂の主成分は 29 とされているが、本報告で分析した試料は 30 のほうが多く含まれていた。

2.2 メチルエステル化ジテルペノイド試料の GC/MS 分析

ジテルペノイド系樹脂であるロシンとコーパル樹脂の各1試料について、TMSDM によりメチルエステル化した後、GC/MS で分析し、構成成分を確認した。Fig. 8 に、ジテルペノイドのピークが現れた保持時間 13 分付近を拡大した TIC クロマトグラムを示す。また、主要なピークのマスペクトルを Fig. 9 に示す。

ロシンのメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 8A に示すが、メチルエステル化試料において同定された化合物は、ピーク保持時間の小さい順に、sandaracopimaric acid methyl ester (31a), 8,15-isopimaric acid methyl ester (32a), dehydroabietic acid methyl ester (33a), abietic acid methyl ester (34a), neoabietic acid methyl ester (35a), 15-hydroxy-7-oxodehydroxyabietic acid methyl ester (36a), 7-oxodehydroxyabietic acid methyl ester (37a) であった。各化合物の構造式を Fig. 10 に示した。ロシンに特異的で判別の指標成分となりうるのは、33a, 34a である。ピーク 33a のマスペクトルを Fig. 9A に示した。[M]⁺ である m/z = 314 のピークと、[M-Me]⁺ である m/z = 299 のピークが認められた。ピーク 34a のマスペクトルを Fig. 9B に示した。[M]⁺ である m/z = 316 のピークが認められた。

コーパル樹脂のメチルエステル化物の TIC クロマトグラムを Fig. 8B に示すが、メチルエステル化試料において同定された化合物は、ピーク保持時間の小さい順に、*trans*-communic acid methyl ester (38a), 31a, agathic acid dimethyl ester (39b), agathic acid methyl ester (40a) であった (Fig. 10)。コーパル樹脂に特異的で判別の指標成分となりうるのは、39b のピークである。ピーク 39b のマスペクトルを Fig. 9C に示した。分子量は 362 であるが、[M]⁺ は検出されなかった。 m/z = 347 のピークはメチル化された2つのカルボン酸のうちのどちらから1つのメチル基が脱離した [M-Me]⁺ であり、 m/z

Fig. 8. GC/MS total ion current chromatograms of the methyl-esterified samples of diterpenoid resins
A: rosin, B: copal resin

Fig. 9. Mass spectra of peaks in GC/MS chromatograms in Fig. 6
A: rosin, retention time (RT)=12.8 min (compound 33a); B: rosin, RT=13.1 min (compound 34a); C: copal resin, RT=13.7 min (compound 39b)

Fig. 10. Compounds found in rosin and copal resin and the methyl-esterified compounds

=302 のピークは $[M-HCOOMe]^+$ である。

考 察

既存添加物名簿に記載されているテルペノイド系ガムベース品目について、食品添加物製品を含むテルペノイド系樹脂をトリテルペノイド試料とジテルペノイド試料の2グループに分類し、それぞれのグループに適した条件のTLC分析で比較した結果、樹脂ごとに互いに異なる特徴的なパターンを示した。このことから、各品目の識別が可能であると判断した。また、同一樹脂名で複数製品が得られたマスティック（食品添加物および試薬）とダンマル樹脂（食品添加物、試薬および画材）では、用途の異なる製品の間でもほぼ同じパターンを示した。TLC分析は、テルペノイド系ガムベース品目の簡便な確認試験法として有望である。

また、メチルエステル誘導体化GC/MSで分析したところ、TICクロマトグラムは樹脂ごとに互いに異なる特徴的なパターンを示したことから、品目間の識別が可能であることが示された。トリテルペノイド樹脂群とジテルペノイド樹脂群とでは主要成分の溶出時間が大きく異なっており、両群の判別は容易であると考えられる。さらに、マススペクトルから、いずれの樹脂についても各樹脂の主要構成成分として報告されている化合物を検出することができた。今回、複数の樹脂を同一条件で分析した結果、検出された化合物の多くはそれぞれの樹脂に特異的で、判別の指標成分となりうる化合物であり、複数の品目に共通して観察されたのはマスティックとダンマル樹脂の成分である化合物5, 6および7のみであった。したがって、GC/MS分析によってテルペノイド系樹脂の識別が可能であり、成分規格の確認試験法として有望であることが示された。

誘導体化を施さない試料もGC/MSでの分析を試みたが、カルボン酸の構造を持つ成分は検出されないために

ピークが少なく、すべての樹脂を識別することは不可能であった。したがって、GC/MS分析では原則としてメチルエステル化物を分析することが必要と考えられる。

以上のように、TLCとGC/MSは、両者を併用することにより、テルペノイド系ガムベース原体の成分規格における確認試験法となりうる特徴を備えている。しかし、今後国の成分規格の確認試験として採用するには、さらに多くの食品添加物用途の市場流通品を試験し、分離パターンや組成が大きく異なる製品が存在するかどうか検討して試験法の適合性を検証することが必要である。

謝 辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進事業により実施した。テルペノイド系ガムベース製品をご提供いただいた日本食品添加物協会に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省“第8版食品添加物公定書”(2007).
- 2) Food Chemicals Codex, sixth edition (2008).
- 3) Tada, A., Masuda, A., Sugimoto, N., Yamazaki, T., Tanamoto, K. Analysis of constituents of ester-type gum bases used as natural food additives. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **48**, 179–185 (2007).
- 4) Tada, A., Sugimoto, N., Furusho, N., Ishizuki, K., Sato, K., Yamazaki, T., Tanamoto, K. Investigation of constituents in ozokerite, a natural food additive. Nihon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food Chem. Safety) **16**, 92–96 (2009).
- 5) Papageorgiou, V. P., Bakola-Christianopoulou, M. N., Apazidou, K.K., Psarros, E. E. Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. J. Chromatogr. A, **769**, 263–

- 273 (1997).
- 6) van der Doelen, G. A., van den Berg, K. J., Boon, J. J., Shibayama, N., de la Rie, E. R., 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. *J. Chromatogr. A*, **809**, 21–37 (1998).
 - 7) Mathe, C., Culioli, G., Archier, P., Vieillescazes, C. Characterization of archaeological frankincense by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1023**, 277–285 (2004).
 - 8) Osete-Cortina, L., Doménech-Carbó, M. T., Mateo-Castro, R., Gimeno-Adelantado, J. V., Bosch-Reig, F. Identification of diterpenes in canvas painting varnishes by gas chromatography-mass spectrometry with combined derivatization. *J. Chromatogr. A*, **1024**, 187–194 (2004).
 - 9) Colombini, M. P., Modugno, F., Giannarelli, S., Fuoco, R., Matteini, M. GC-MS characterization of paint varnishes. *Microchem. J.*, **67**, 385–396 (2000).
 - 10) van der Doelen, G. A., van der Berg, K., Boon, J. J. Comparative chromatographic and mass-spectrometric studies of triterpenoid varnishes: Fresh material and aged samples from paintings. *Studies in Conservation*, **43**, 249–264 (1998).
 - 11) Watts, S., de la Rie, E. R. GCMS analysis of triterpenoid resins: *In situ* derivatization procedures using quaternary ammonium hydroxides. *Studies in Conservation*, **47**, 257–272 (2002).
 - 12) Assimopoulou, A. N., Papageorgiou, V. P. GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. *Biomed. Chromatogr.*, **19**, 285–311 (2005).