

Tecnica analitica: pirolisi-gas cromatografia/spettrometria di massa (Py-GC/MS)

Campionamento e tipo di analisi:

adatto alla determinazione qualitativa e semi-quantitativa di composti organici ed in particolar modo di polimeri in campioni liquidi o solidi. I campioni possono essere analizzati senza pre-trattamento, inserendo direttamente una piccola aliquota (~ 0,1 mg) nella navicella portacampione, con o senza aggiunta simultanea di derivatizzante. Il derivatizzante può anche essere aggiunto in una fase precedente, con un eventuale riscaldamento per favorire le reazioni di idrolisi. L'analisi è microinvasiva e micro distruttiva.

Principio di funzionamento:

il campione viene posto in una navicella di quarzo alloggiata nel filamento del pirolizzatore (sonda). La sonda viene quindi inserita in una camera di pirolisi termostata in cui è flussato elio, direttamente interfacciata con il sistema GC/MS. La pirolisi ad alta temperatura viene effettuata simultaneamente all'avvio della corsa cromatografica, quindi le specie chimiche generate vengono spinte dal flusso di elio nella colonna termostata, separate e rilevate dallo spettrometro di massa.

Procedura analitica adottata per i campioni di unguenti antichi:

sono state utilizzate due differenti procedure di preparazione del campione. Nel primo caso un'aliquota di campione (~ 0,1 mg) viene inserita senza pretrattamento nella navicella di quarzo, trattenuta da tappi di lana di quarzo e 5/6 • l di TMAH (idrossido di tetrametilammonio) aq. al 25 % in peso vengono aggiunti al campione immediatamente prima dell'analisi. Nella seconda procedura il campione (1-2 mg) viene dissolto nella soluzione di TMAH (50-100 • l). La miscela viene sottoposta a riscaldamento a bagnomaria a 100 °C per circa 30 minuti, quindi 5-7 • l del preparato vengono iniettati in un batuffolo di lana di quarzo inseriti nella navicella e pirolizzati.

Strumentazione e condizioni sperimentali adottate:

è stato utilizzato un gascromatografo 6890N (Agilent Technologies, USA) accoppiato con rilevatore a spettrometria di massa a quadrupolo e ionizzazione ad impatto elettronico (70 eV) 5973 Mass Selective Detector (Agilent Technologies, USA). Il pirolizzatore interfacciato alla colonna gascromatografica è un CDS Pyroprobe 1000 con interfaccia CDS 1500 Valved Interface (CDS ANALYTICAL INC, USA). Le interfacce py-GC e GC/MS sono mantenute a 280 °C. La temperatura di pirolisi è 600 °C.

La colonna GC è una HP-5MS (Hewlett Packard, fase stazionaria 5 % fenilmetilsilossano, I.D. 0,25 mm, spessore fase stazionaria 0.25 • m, lunghezza 30 m)

- Programma di temperatura del forno: 50 °C (2 min), 10 °C/min (fino a 130 °C), 5°C/min (fino a 180°C), 15 °/min (fino a 300 °, mantenuti 5 min.)

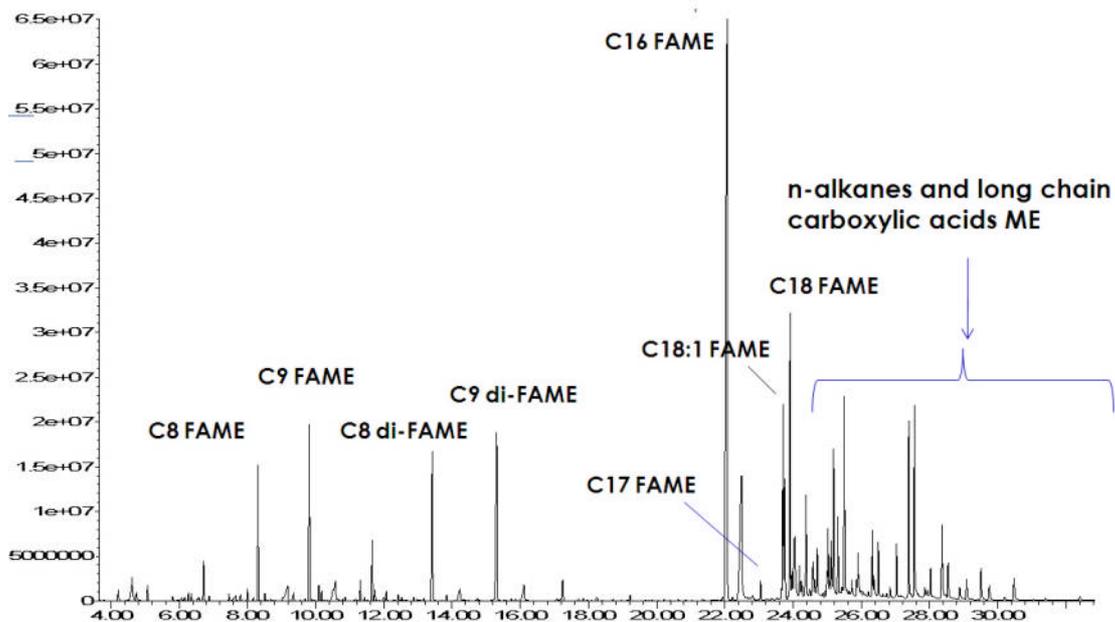
- gas di trasporto: elio a 1.0 ml/min
- iniezione in split a 1/20 del flusso totale

Informazioni ottenibili:

l'analisi in py-GC/MS permette di ottenere il profilo molecolare dei composti organici ottenuti dalla pirolisi di materiali naturali e sintetici di natura polimerica. Il tipo e la distribuzione dei marker molecolari consente il riconoscimento di materiali quali resine naturali e sintetiche, polisaccaridi, oli siccativi ed altri polimeri. E' possibile anche ottenere il profilo molecolare di materiali non strettamente polimerici, come oli e cere, ma composti da miscele di composti organici ad alto peso molecolare (acidi grassi, alcol, alcani). Più difficoltoso risulta il riconoscimento di materiali proteici, a causa della degradazione ad alte temperature dei polipeptidi. In genere l'identificazione delle sostanze viene effettuato su base semi-quantitativa, calcolando rapporti tra le aree cromatografiche e basandosi su marker caratteristici e specifici dei vari materiali.

Esempio di analisi:

pirogramma di campione "unguentum pro igne" da Museo Aboca (San Sepolcro, Arezzo), n° inventario 50015. Campione solido nella navicella di quarzo con aggiunta di 7 • l di TMAH aq. 25 % w/w.



I metil esteri degli acidi grassi saturi C16 e C18 (ac. palmitico e stearico) e dell'acido grasso insaturo C18 (ac. oleico) indicano la presenza di un olio vegetale, unitamente ai metil esteri degli acidi di carbossilici C9 e C8, tipici prodotti derivanti dall'invecchiamento degli acidi grassi con insaturazioni in posizione C8 e C9, presenti negli oli. Il metil estere dell'acido grasso C17 può indicare la presenza nel campione di un grasso animale, come da confronto con standard. N-alcane e metil esteri di acidi carbossilici a lunga catena sono indicativi della presenza di una cera.

Analytical technique: pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry (py-GC/MS)

Sampling and analysis:

suitable for qualitative and semi-quantitative analysis of organic compounds with particular attention to polymers, in liquid and solid samples. Samples may be analyzed without pretreatment, with direct insertion of a small amount of sample (~ 0,1 mg) in a quartz tube, with or without derivatizing agents. The derivatizant may be added also in a preliminary step, followed by warming to obtain enhancement of hydrolysis reactions. The analysis is microinvasive and microdestructive.

Functioning principle:

The sample is loaded in a small quartz tube, retained with quartz wool and inserted in the pyrolyzer coil (probe). The probe is then inserted in a thermostated pyrolysis chamber, directly interfaced with GC/MS system. High temperature pyrolysis is started simultaneously with the chromatographic run, so chemical specie generated from pyrolysis are pushed by helium flux in the thermostated column, separated and relaved by mass spectrometer.

Analytical procedure for ancient ointment samples:

Two different procedures were followed for sample preparation. In the first one a small amount of sample (~ 0,1 mg) was loaded in the quartz tube without any pretreatment and 5/6 • l of TMAH aq. 25 % w/w were added before analysis. In the second one the sample (1-2 mg) was dissolved in TMAH aqueous solution (50-100 • l). The solution was submitted to warming in oil bath at 100 °C for 30 minutes, then 5-7 • l were inserted in the quartz tube and pyrolyzed.

Instrumentation and experimental conditions:

A Gaschromatograph model 6890N (Agilent Technologies, USA) coupled with mass spectrometer 5973 Mass Selective Detector (Agilent Technologies, USA) with quadrupole and electronic impact ionization (70eV) was used. The Pyrolyzer interfaced with the GC was a CDS Pyroprobe 1000 with CDS 1500 Valved Interface (CDS ANALYTICAL INC, USA). Pyrolysis and GC/MS interfaces were kept at 280 °C. Pyrolysis temperature was 600 °C.

GC column is an HP-5MS (Hewlett Packard, stationary phase 5% phenylmethylsiloxane, i.d. 0,25 mm, stationary phase thickness 0,25 • m, length 30 m). Separation conditions were:

- Oven program: 50 °C (held 2 min.), 10°C/min to 130 °C, 5 °C/min to 180 °C, 15°C/min to 300 °C (held 5 min.)
- Carrier gas : helium at 1,0 ml/min
- Injection in split mode at 1720 of total flux

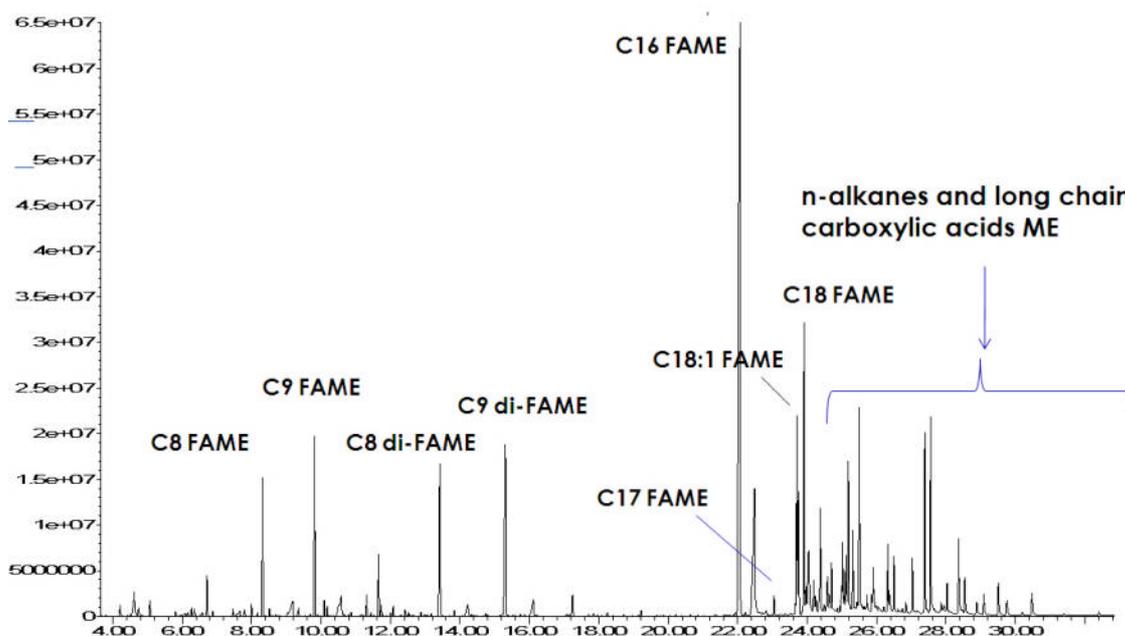
Informations obtained:

Py-GC/MS analysis allows to obtain the molecular profile of organic compounds derived from pyrolysis of natural and synthetic polymeric materials. The kind of markers and their distribution make possible to recognize materials as natural and synthetic resins, polysaccharides, siccative oils and other polymers. It is also possible to obtain molecular profile of non-polymeric compounds, as oils and waxes, composed by mixtures of high molecular weight organic molecules (long chain fatty acids, alcohols and alkanes). More difficult is the proteinaceous material identification, because of the strong degradation of polypeptides at the high temperatures of analysis.

In addition to the characterization of substances achievable by identification of the specific markers formed during the pyrolysis, semi-quantitative compositional analysis may be obtained from peak areas evaluation.

Example of analysis:

Pyrogram of sample “*unguentum pro igne*” from Museo Aboca (San Sepolcro, Arezzo, Italy), n° 50015. Solid sampled charged in quartz tube with additions of 7 • l of TMAH aq. at 25 % w/w.



Saturated fatty acids methyl esters of C16 and C18 (palmitic and stearic acids) and unsaturated fatty acids methyl esters C18 (oleic acids) are indicative of the presence of plant oil, also confirmed by the peaks of C8 and C9 dicarboxylic acids, characteristic products of ageing of fatty acids with unsaturations in C8 and C9 positions, present in oils.

The C17 fatty acid methyl ester should be indicative of the presence of animal fat. N-alkanes and long chain fatty acids methyl esters are markers of the presence of a wax.