

Tecniche cromatografiche

Tra le tecniche più idonee all'analisi di reperti organici vi sono le cosiddette *tecniche cromatografiche*, utilizzate per separare e identificare singolarmente i componenti di una miscela

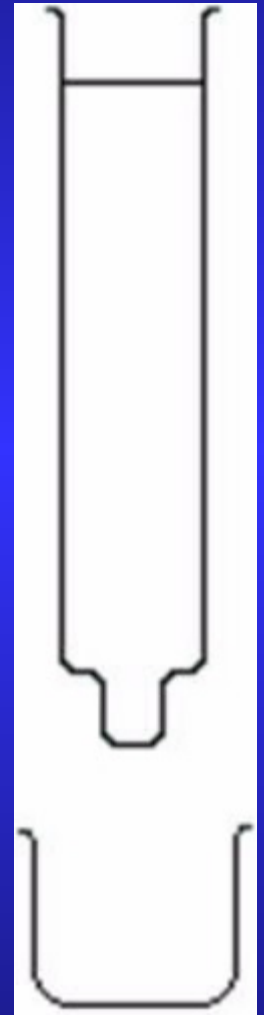
Il termine deriva dal greco ed è legato al suo inventore, un botanico russo di nome Tzwett (nato ad Asti), che all'inizio del XX secolo intendeva separare le sostanze coloranti della clorofilla



La prima separazione

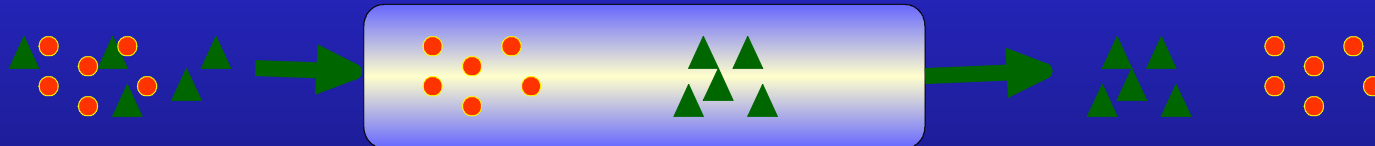
Tswett intendeva separare i pigmenti presenti nella clorofilla; riempì una colonna di vetro con carbonato di calcio, vi depositò in testa un estratto di foglie verdi ed eluì con solfuro di carbonio: i vari pigmenti si separarono in bande colorate

Tswett chiamò questa procedura *cromatografia* dal greco *scrittura del colore* o, visto il significato del suo cognome in russo, *scrittura di Tswett*



Principi della cromatografia

Queste tecniche sono molto varie, ma si basano tutte su un principio comune: esse sfruttano la differenza di interazione dei componenti di una miscela nei confronti di un supporto statico, la fase fissa o stazionaria, e di un supporto dinamico, la fase mobile o eluente, che fluisce attraverso la fase fissa trascinando le sostanze componenti la miscela. Durante l'attraversamento, detto processo di eluizione, i componenti subiscono un rallentamento più o meno marcato a seconda della loro affinità per la fase fissa ed escono da essa a tempi diversi, in modo da poter essere identificati uno per uno. Le sostanze che compongono la miscela vengono identificate mediante un rivelatore posto all'uscita dalla fase fissa che registra le modifiche di alcune proprietà chimico-fisiche. Il responso che si ottiene si chiama cromatogramma



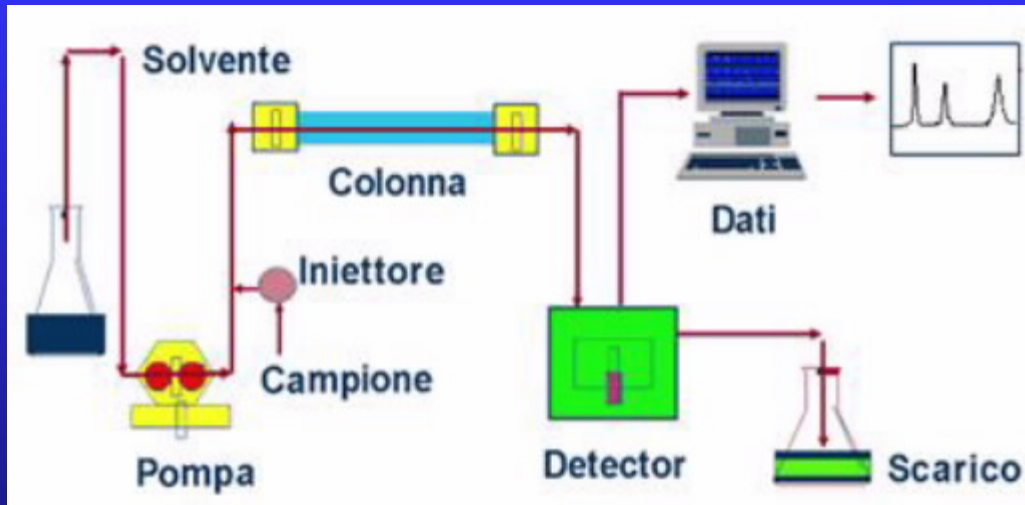
Tipi di cromatografia

I due gruppi principali di tecniche cromatografiche sono:

- la *cromatografia liquida*, nella quale la fase mobile è liquida e la fase fissa è solida o liquida
- la *gascromatografia*, nella quale la fase mobile è gassosa e la fase fissa è solida o liquida

Cromatografia liquida

Nella cromatografia liquida (LC) la fase fissa è una colonna o un supporto planare contenente il materiale attivo, la fase mobile è un liquido; essa è utilizzata per la separazione di sostanze poco volatili come idrocarburi ad alto peso molecolare, molecole biologiche (proteine, grassi), sostanze ioniche o ionizzabili (anioni, amine, zuccheri)

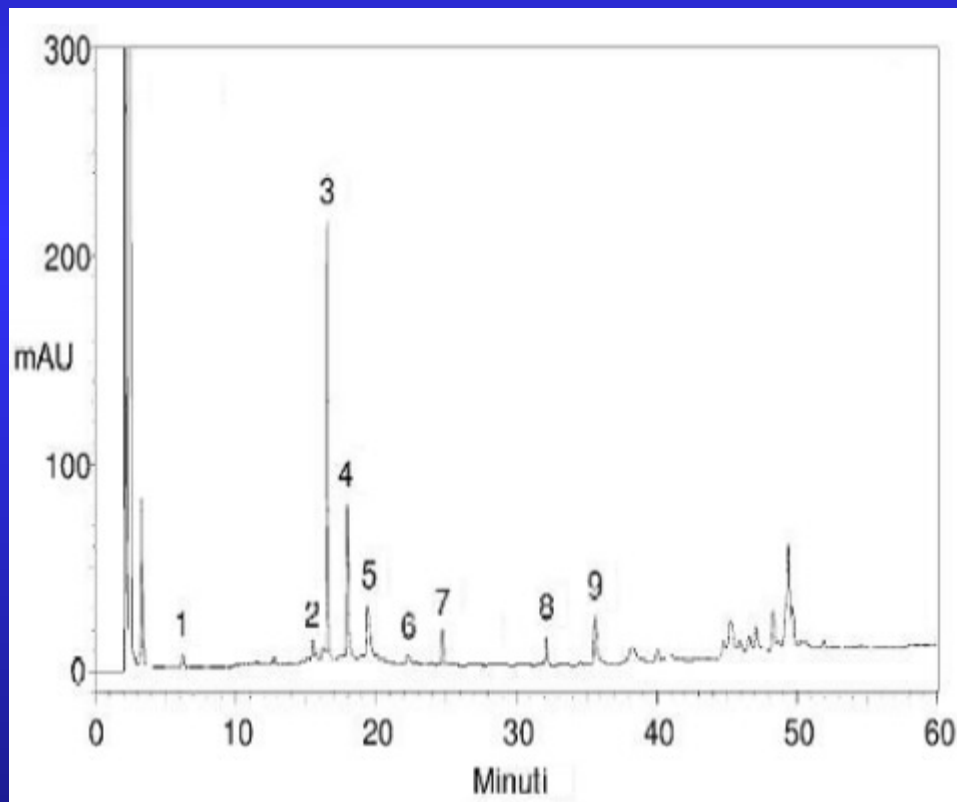


Particolarmente usate sono la cromatografia ad alta pressione o HPLC per la separazione di sostanze neutre e la cromatografia ionica (IC) per la separazione di sostanze ioniche

Esempio di cromatogramma

Un esempio di analisi HPLC si ha nella figura sottostante, nella quale è mostrata la separazione e identificazione di composti usati per la tintura di un manufatto di seta rossa Copto (VII-IX secolo d.C.)

- 1 - Acido gallico (tannini)
- 2 - Acido laccaico B
- 3 - Cocciniglia Armena
- 4 - Acido ellagico (tannini)
- 5 - Acido laccaico A
- 6 - Luteolina (Lacca di gualda)
- 7 - Apigenina (Lacca di gualda)
- 8 - Alizarina (Robbia)
- 9 - Purpurina (Robbia)



Tecnica LC-MS

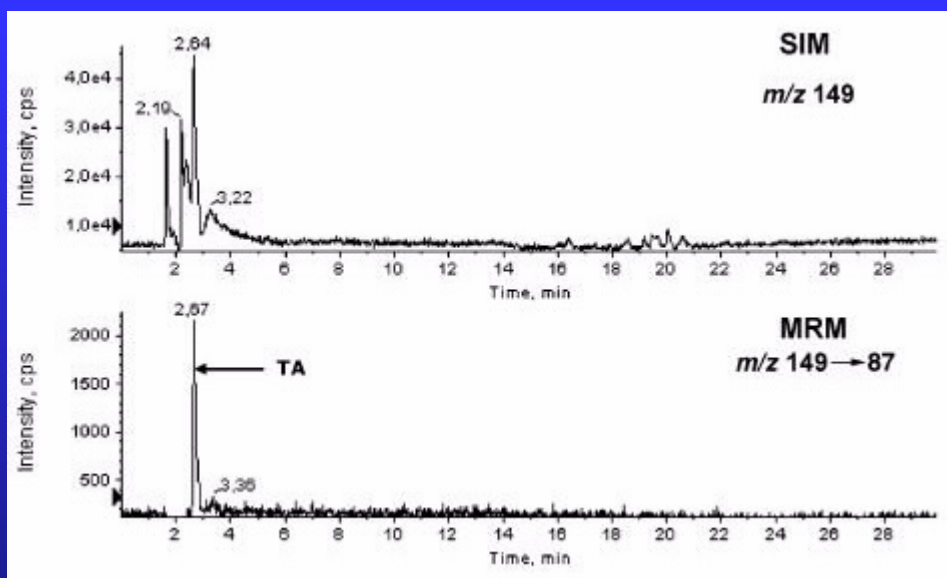
Recentemente, uno sviluppo importante della tecnica HPLC è stato l'interfacciamento alla spettrometria di massa per ottenere strumenti LC-MS, in modo da poter avere in ogni istante lo spettro di massa delle sostanze separate

La tecnica LC-MS consente di avere informazioni strutturali sulle molecole separate e quindi permette di riconoscere in maniera più semplice i vari composti. Spesso infatti i campioni di natura organica sono miscele complesse contenenti numerose sostanze diverse

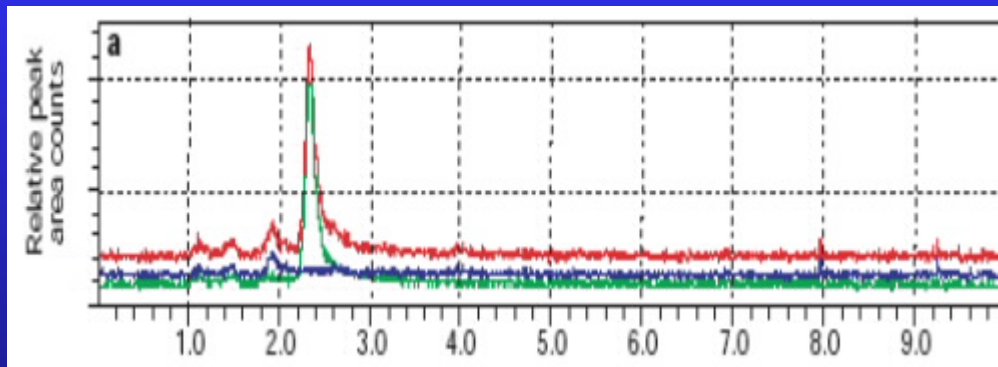


Applicazioni della LC-MS

Analisi LC-MS su un residuo (2 mg) di polvere bianca rinvenuta all'interno di una giara trovata nella tomba di Tutankhamun (XVIII Dinastia). Il cromatogramma è ottenuto monitorando la massa 149, corrispondente al PM dell'acido tartarico - 1 u.m.a., e la massa 87, corrispondente al peso di un prodotto di frammentazione di questa molecola. Si tratta di un marcatore del vino

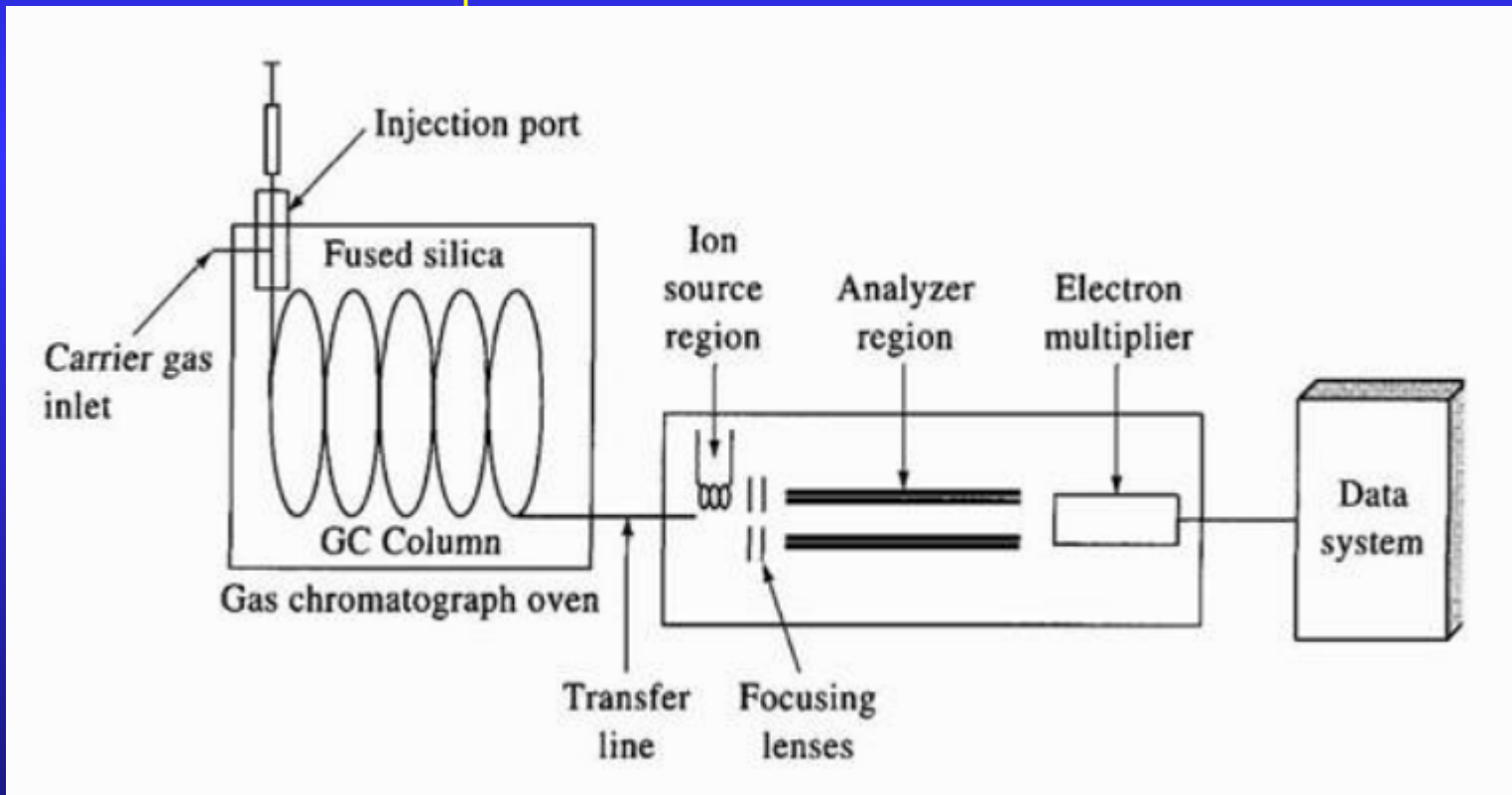


Analisi LC-MS su un residuo (500 mg) di polvere bruna raccolto all'interno di una brocca scavata nel Belize settentrionale (zona Maya), risalente al periodo 600 a.C. - 250 d.C.. Il cromatogramma in rosso è ottenuto monitorando la massa 181, corrispondente al PM della teobromina - 1 u.m.a., e la massa 195, corrispondente al PM della caffeina - 1 u.m.a.; questi risultati evidenziano la presenza di residui del cacao, e consentono di retrocedere di circa 1000 anni l'inizio del consumo di cioccolato



Gas Cromatografia

Nella gascromatografia (GC) la fase fissa è una colonna contenente il materiale attivo e la fase mobile è un gas; essa è utilizzata per la separazione di sostanze volatili o volatilizzabili come idrocarburi a basso peso molecolare, aromi, acidi organici. Tra le varie versioni, particolarmente utilizzata in campo archeometrico è la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS) che consente di avere informazioni strutturali sulle sostanze separate



Strumenti per gascromatografia

Esempi di strumenti GC-MS



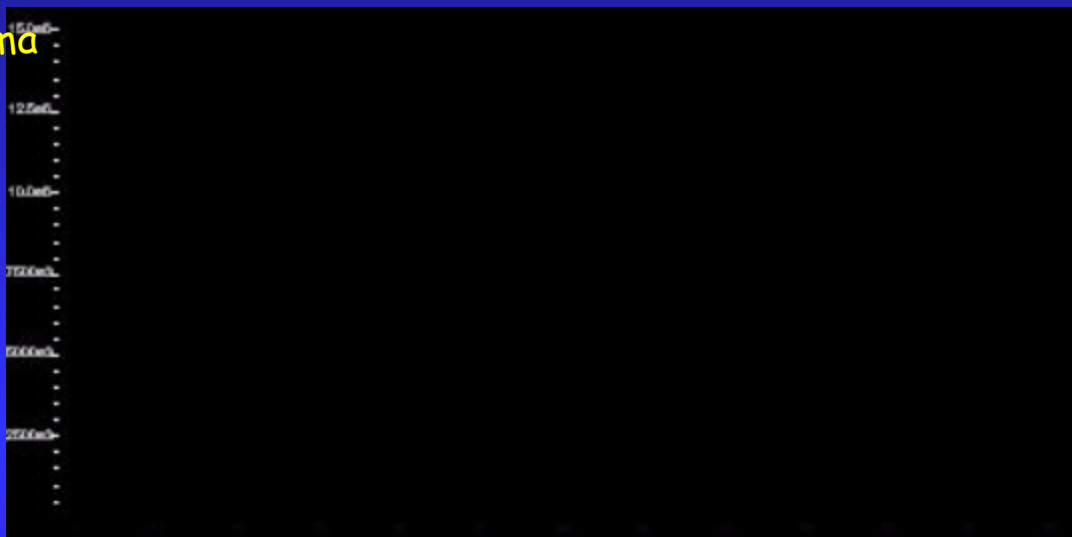
GC-MS da banco



GC-MS portatile

Esempio di cromatogramma GC-MS

cromatogramma



tempo di ritenzione

spettro di massa



m/z



m/z

Caratteristiche tecniche

Caratteristiche delle tecniche cromatografiche	
<i>Tecnica distruttiva</i>	Sì
<i>Informazione fornita</i>	Si determinano composti o elementi
<i>Tipo di campioni analizzabili</i>	Gas, liquidi e solidi (se portati in soluzione)
<i>Possibilità di analisi in situ</i>	No
<i>Possibilità di analisi senza prelievo di campione</i>	No
<i>Risoluzione spaziale</i>	Nulla
<i>Porzione del campione analizzato</i>	Analisi totale del campione
<i>Espressione dei risultati</i>	Concentrazione
<i>Sensibilità</i>	Buona-ottima
<i>Materiali analizzabili</i>	Tutti quelli a base organica, alcuni inorganici
<i>Costo</i>	Basso