LA DATAZIONE DEI BENI CULTURALI CELLULOSICI A PARTIRE DALLA QUESTIONE DELLA SINDONE

Luigi Campanella
Dipartimento di Chimica
Università "La Sapienza"

METODI DI DATAZIONE

Metodo del ^{14}C

Metodo NMR

Dendrocronologia

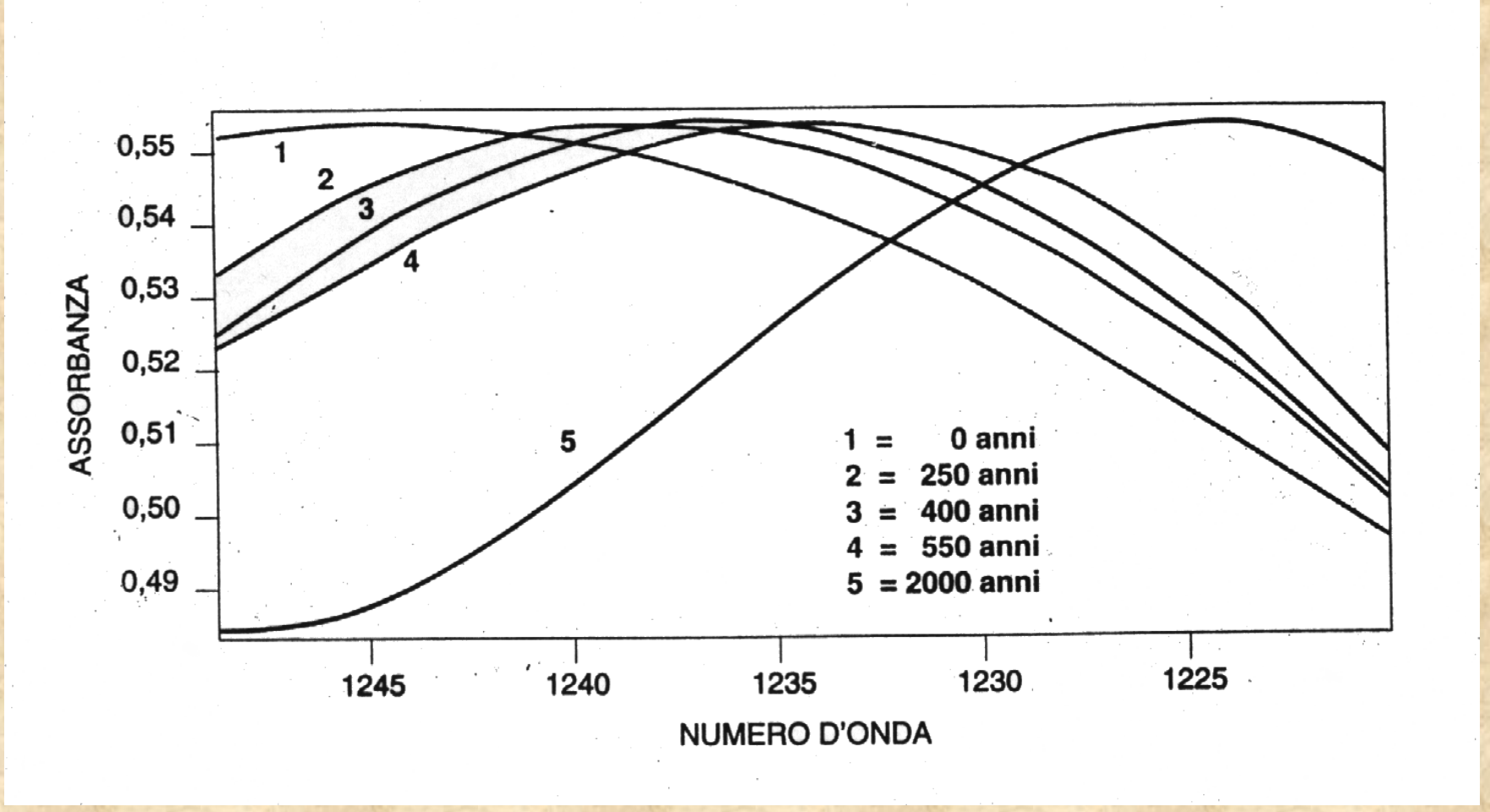
Spettroscopia ir

Racemizzazione degli amminoacidi

il tenore di ^{14}C residuo dipende
dalla sua concentrazione di partenza e pertanto,
dopo aver determinato l'età teorica in base
alla legge di Soddy, occorre ricorrere alla curva
di calibrazione dendrocronologica per ottenere
la data storica reale

$$^{14}C_{finale} = {}^{14}C_{iniziale} \exp(-\lambda t)$$

ir


ASSORBANZA
0,55
0,54
0,53
0,52
0,51
0,50
0,49
1
2
3
4
5
1 = 0 anni
2 = 250 anni
3 = 400 anni
4 = 550 anni
5 = 2000 anni
1245
1240
1235
1230
1225
NUMERO D'ONDA

www.sindone.org

La passione secondo Leonardo
(Vittoria Haziel)

punto di partenza

risultati del metodo radiochimico di datazione

(altri elementi collegati a ritrovamenti relativi alla vita di Leonardo)

La querelle Koutnetsov

incendio di Chambery

Simulazione dell'incendio ed effetto sull'età misurata per via radiochimica

Δ = 13 secoli

ossidazione biochimica

Creazionismo ⟷ illuminismo scientifico

USA

INCENDIO

Ossidazione

Combustione

Volatilizzazione

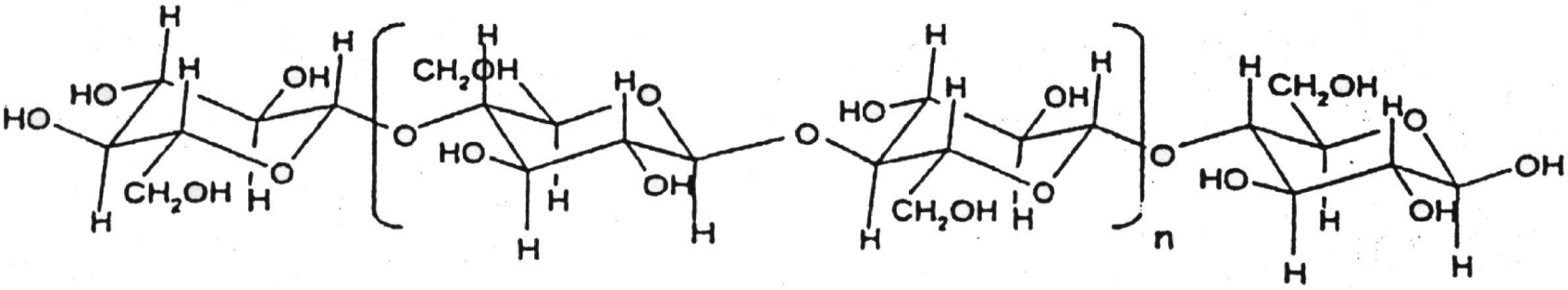
Destrutturazione cellulosa

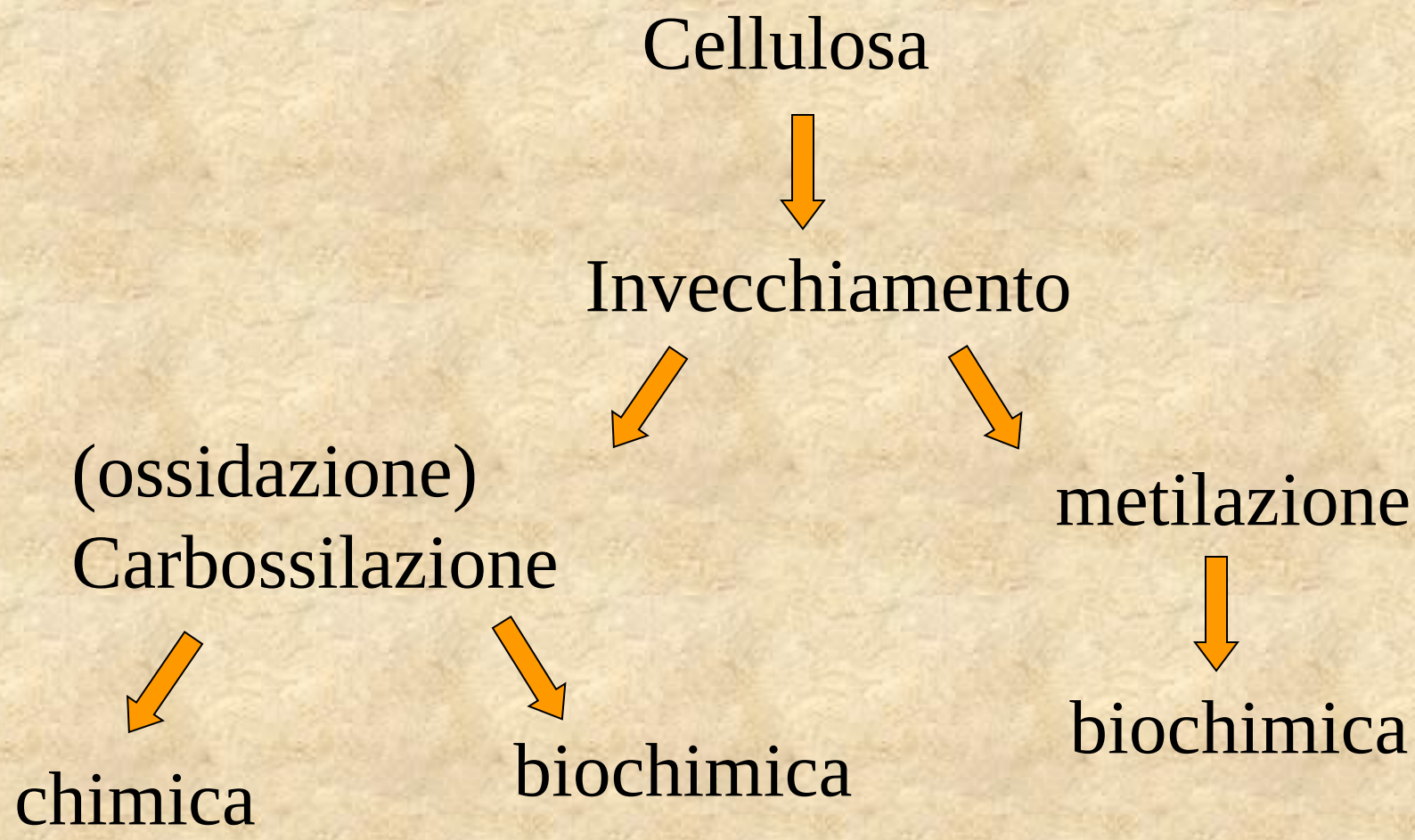
C_{14}/C_{12} ?

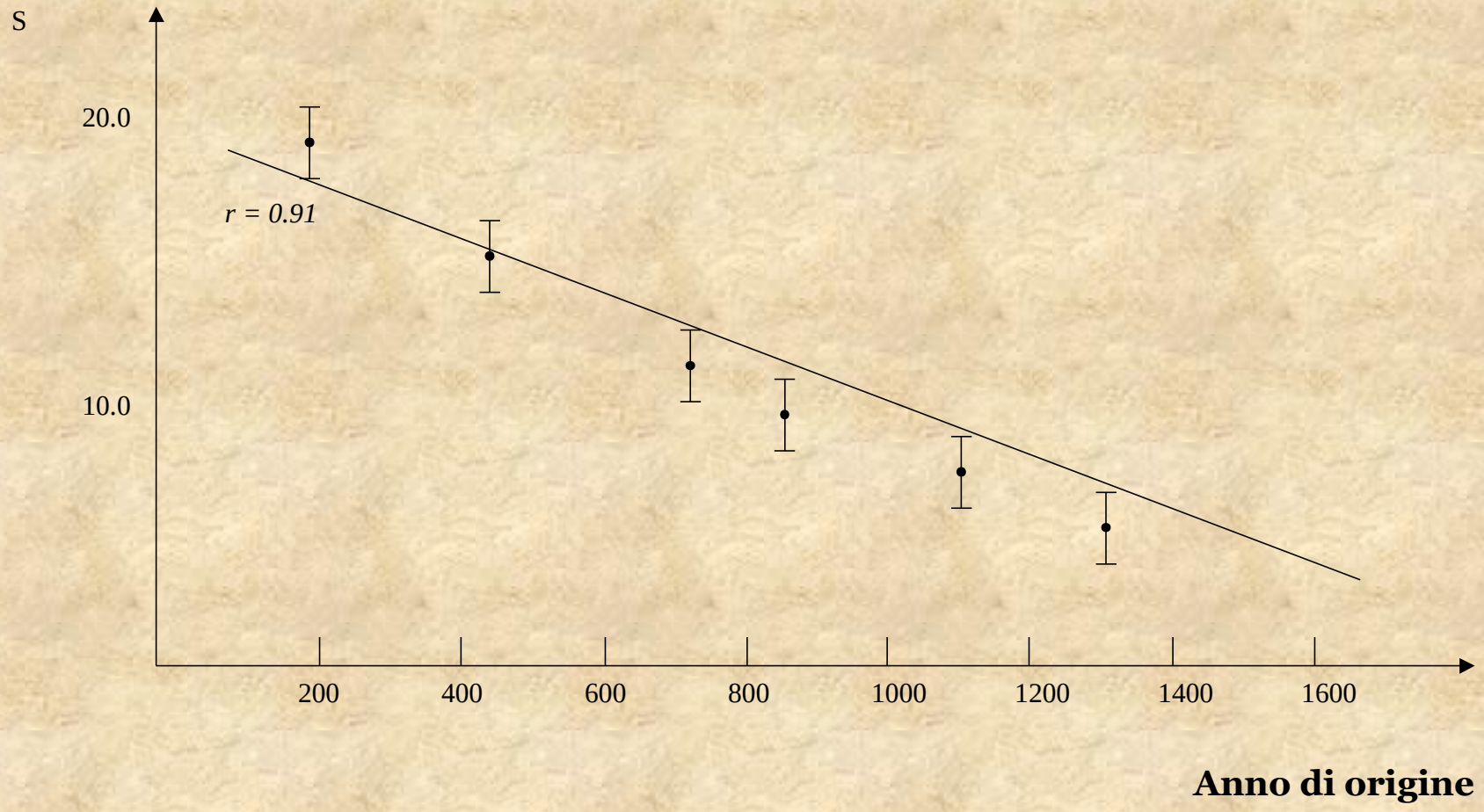
Risultati Contrastanti: Ringiovanimento ?

Invecchiamento ?

Struttura della CELLULOSA

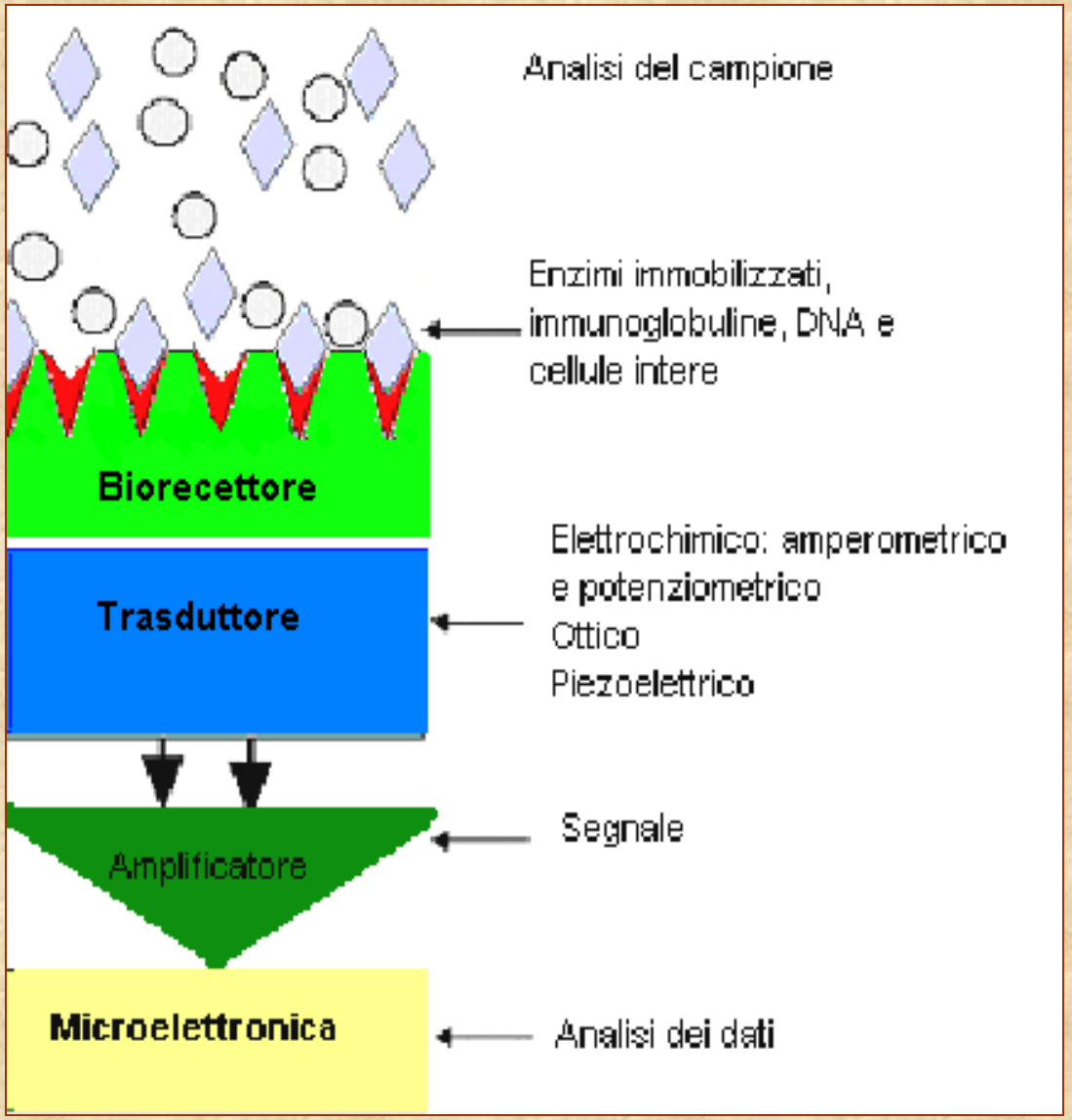



Cellulosa
Invecchiamento
(ossidazione)
Carbossilazione
metilazione
chimica
biochimica
biochimica
(senza apporto
nuovo di C)


S
20.0
10.0
r = 0.91
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
Anno di origine

S = K [COOH]

Schema di un biosensore



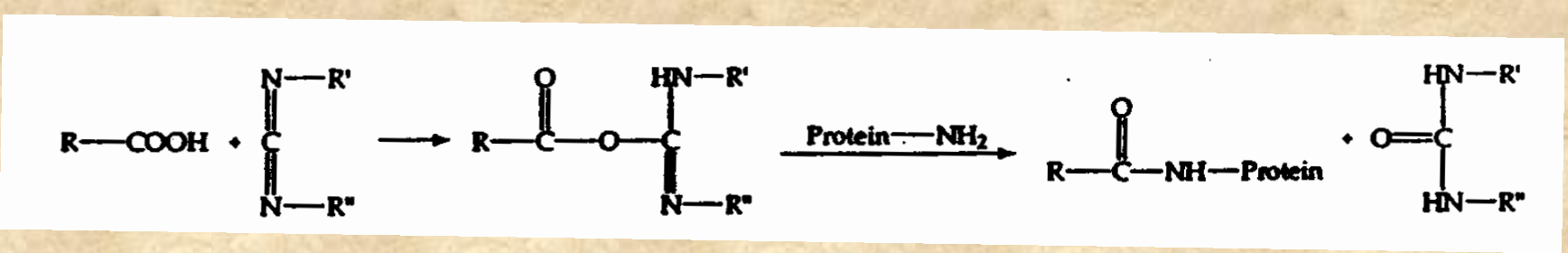
Appicazioni non tradizionali dei biosensori

Misura di

- affaticamento dei materiali
- funzionamento organi artificiali
- tossicità ambienti confinati (sicurezza sul lavoro)
- chimica forense
- difesa dalle armi chimiche

MISURE SPERIMENTALI

- Dischetti circolari di legno, di carta o di tessuto di circa 8 mm di diametro (massa 9,0 ± 0,5 mg)
- Immobilizzazione chimica della glucosio ossidasi con carbodiimmide



…COOH + Carbodiimmide + NH2…

campione (pulito ed umidificato)

ponte

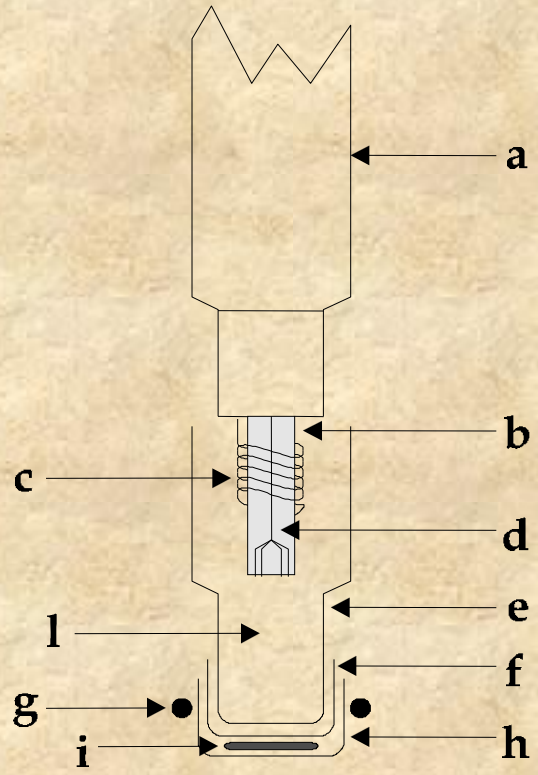
enzima (glucosio ossidasi)

Immobilizzazione (lavaggio eccesso)

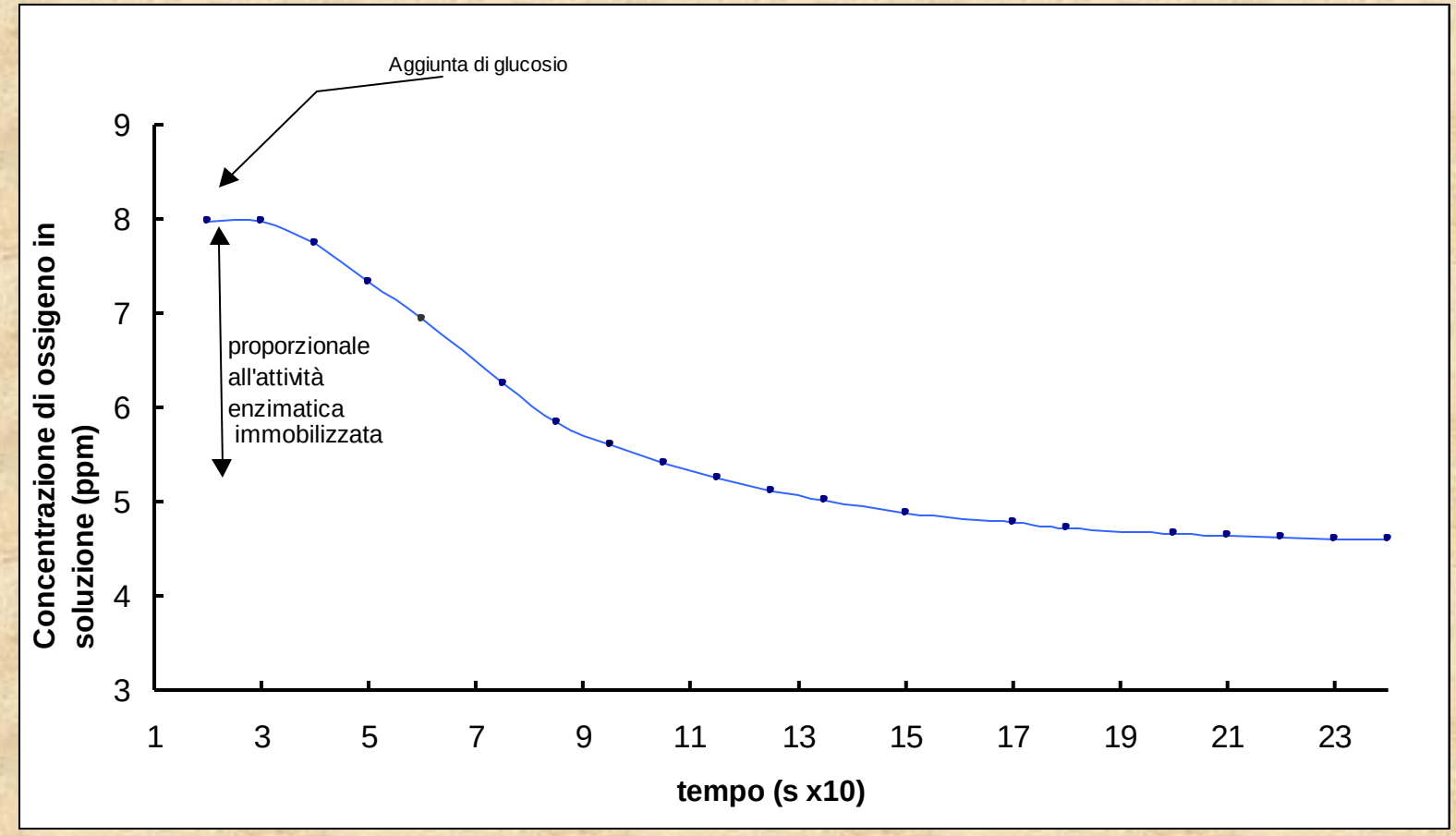
$pH_{opt} = 5,1$

$+ O_2 +$ S (ß-D-glucosio)

Prodotto (ac-gluconico)

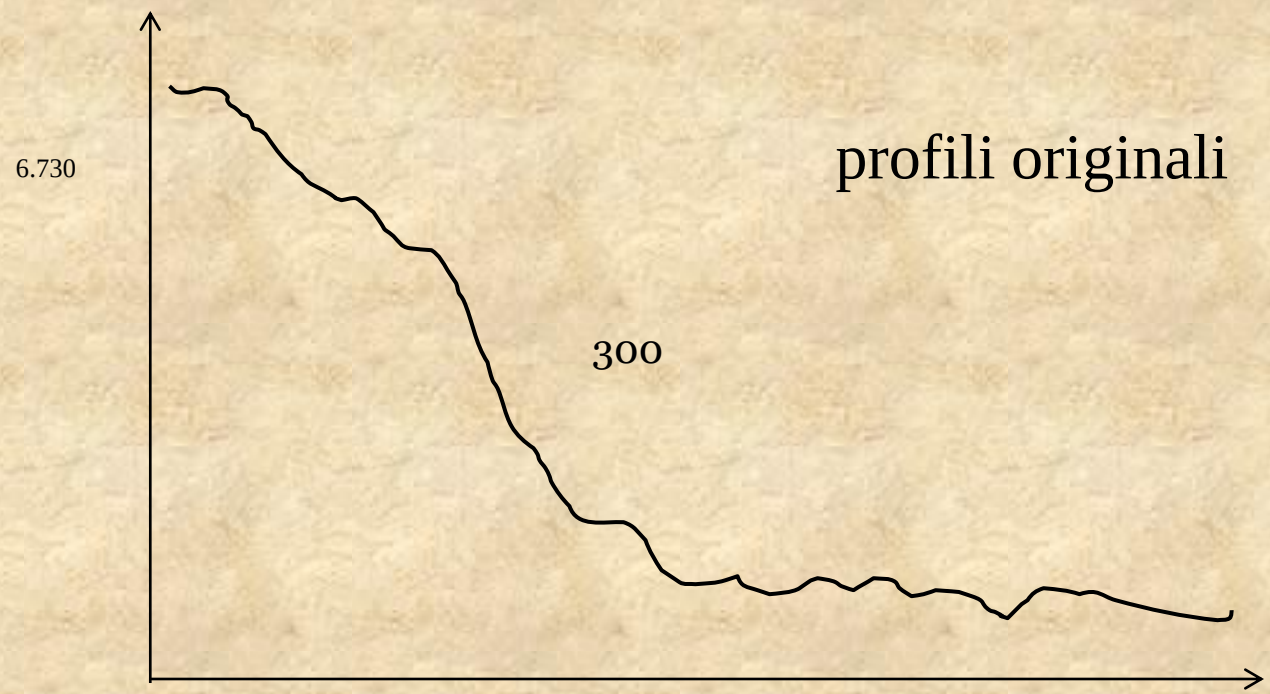


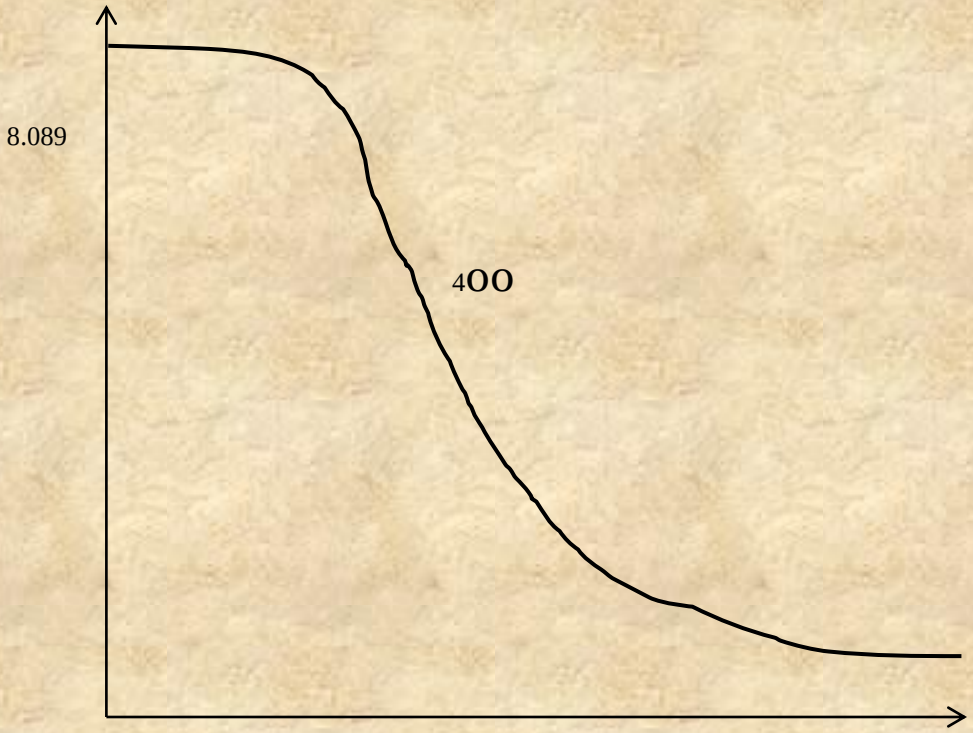
a: elettrodo amperometrico a diffusione gassosa; **b:** dielettrico; **c:** anodo Ag/AgCl; **d:** catodo Pt; **e:** cappuccio dell'elettrodo; **f:** membrana gas-permeabile; **g:** O-ring in gomma; **h:** rete di nylon; **i:** campione (dischetto ligneo con l'enzima immobilizzato); **l:** soluzione interna (tampone fosfato 0.067 mol/KCl 0.1 mol/L, pH 6.6).



Tipica curva sperimentale relativa alla risposta del biosensore per la datazione di reperti lignei.

profili originali





L’elaborazione dei dati viene effettuata calcolando il parametro X, definito come:

$$X = \Delta ppm\ O_2 / P.C. \times t$$

dove: $\Delta ppm\ O_2$ = variazione totale di O_2 in ppm;
P.C. = peso del campione espresso in grammi;
t = tempo in secondi (100 s) durante il quale è stata registrata la variazione totale di O_2, dopo 100 s.

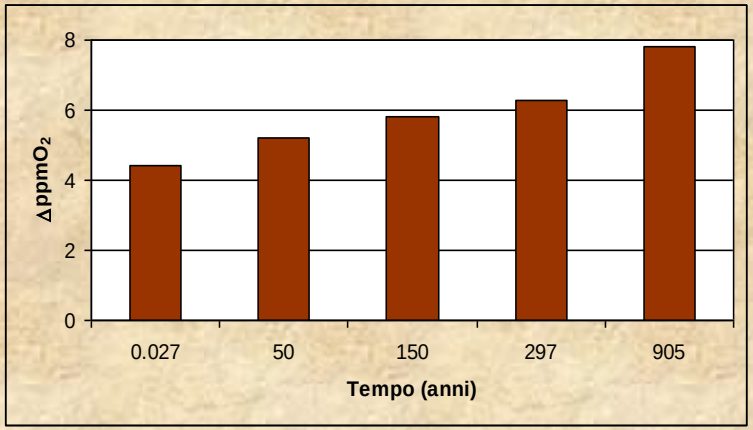
Così formulato, X è naturalmente correlato con l’attività enzimatica immobilizzata per unità di peso e poiché X risulterà correlato all’età del legno, anche l’attività enzimatica immobilizzata ne risulta correlata.

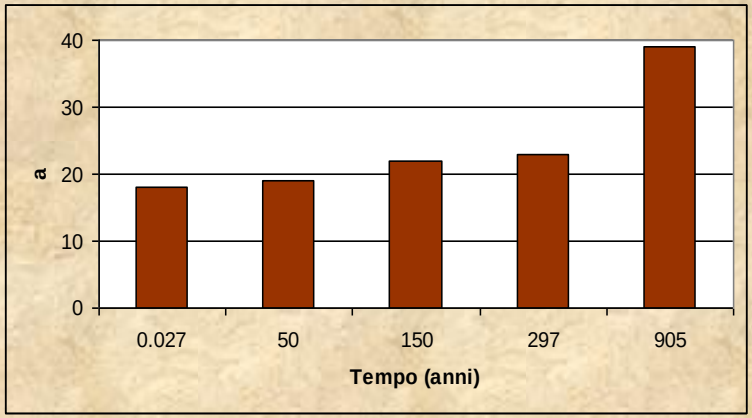
Equazione della retta e coefficiente di correlazione per il valore sperimentale del parametro X in funzione del tempo, trovato per vari campioni di diverse specie lignee.

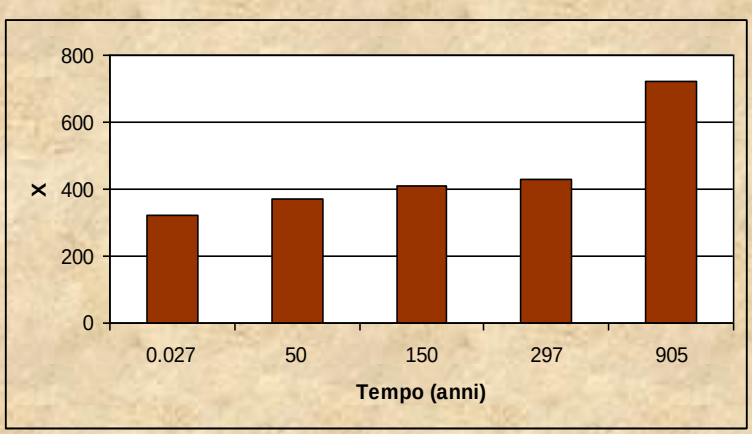
Specie lignea	**Intervallo temporale considerato**	**Equazione della retta** (y=anni; x=$\Delta ppmO_2/s \times g$)	**r^2**
Castagno	XX - XVI secolo	y =0.0346 x + 16.22	0.9674
Ciliegio	XX - XVIII secolo	y = 0.0183 x + 16.75	0.9980
Noce	XX - XVIII secolo	y = 0.0296 x + 17.05	0.9848
Pino	XX - XII secolo	y = 0.0217 x + 17.32	0.9973
Ulivo	XX - XVI secolo	y = 0.0302 x + 16.78	0.9480

Valori sperimentali del paramentro X, trovati per campioni di pino moderni, ottenuti da piante recise di 5 o di 50 anni

Età del Pino	**X**	**RSD%**
Pianta di pino di 5 anni	16.48	5.66
Pianta di pino di 50 anni	16.44	5.63







Correlazione fra i dati ottenuti ($\Delta ppmO_2$), i dati ormalizzati (X) e l'attività enzimatica calcolata (a).

TIPO DI LEGNO

castagno

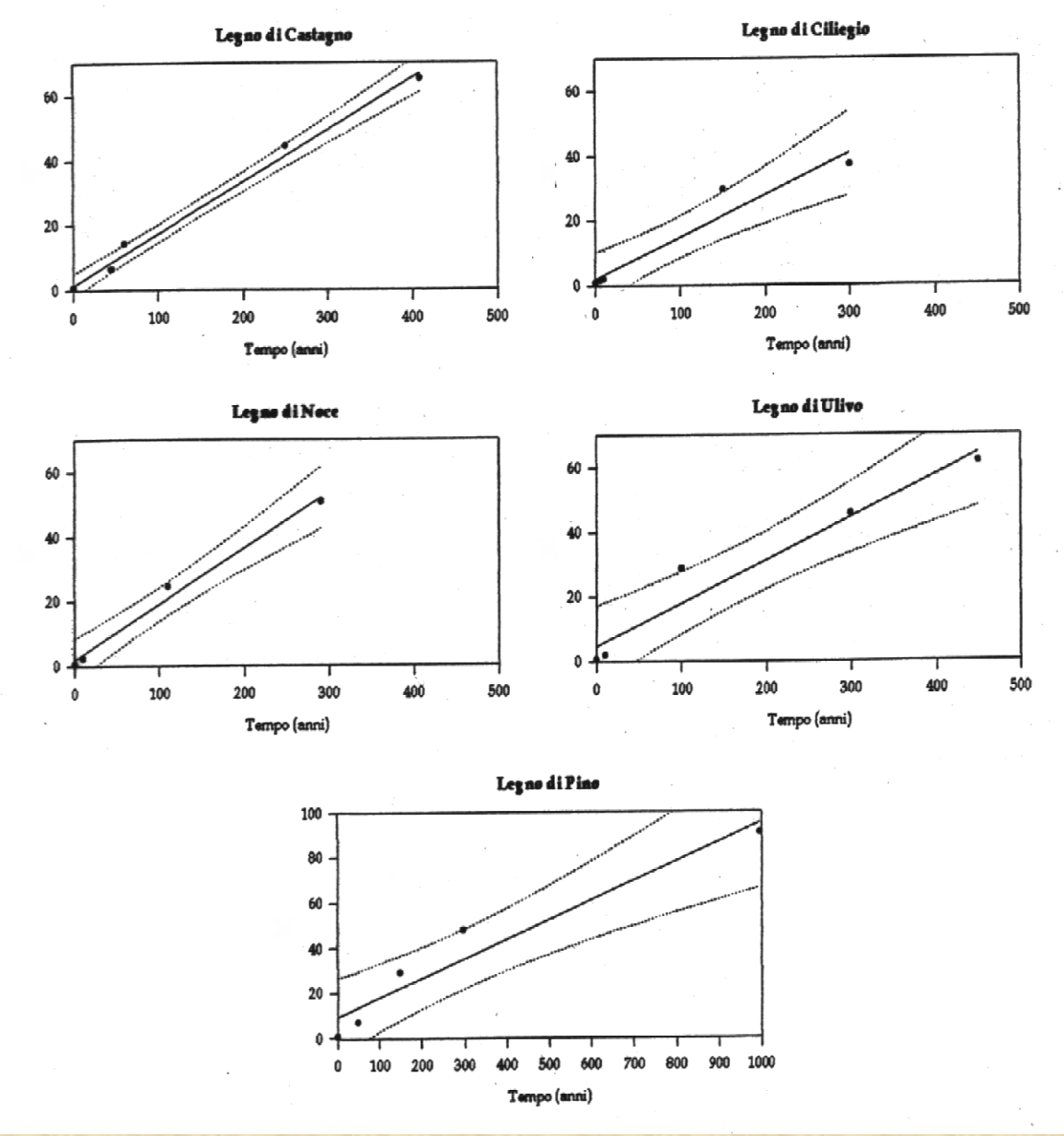
pino

ciliegio

ulivo

noce

Disponibilità di campioni di epoche diverse (antiquari, liutai, ebanisti, musei)

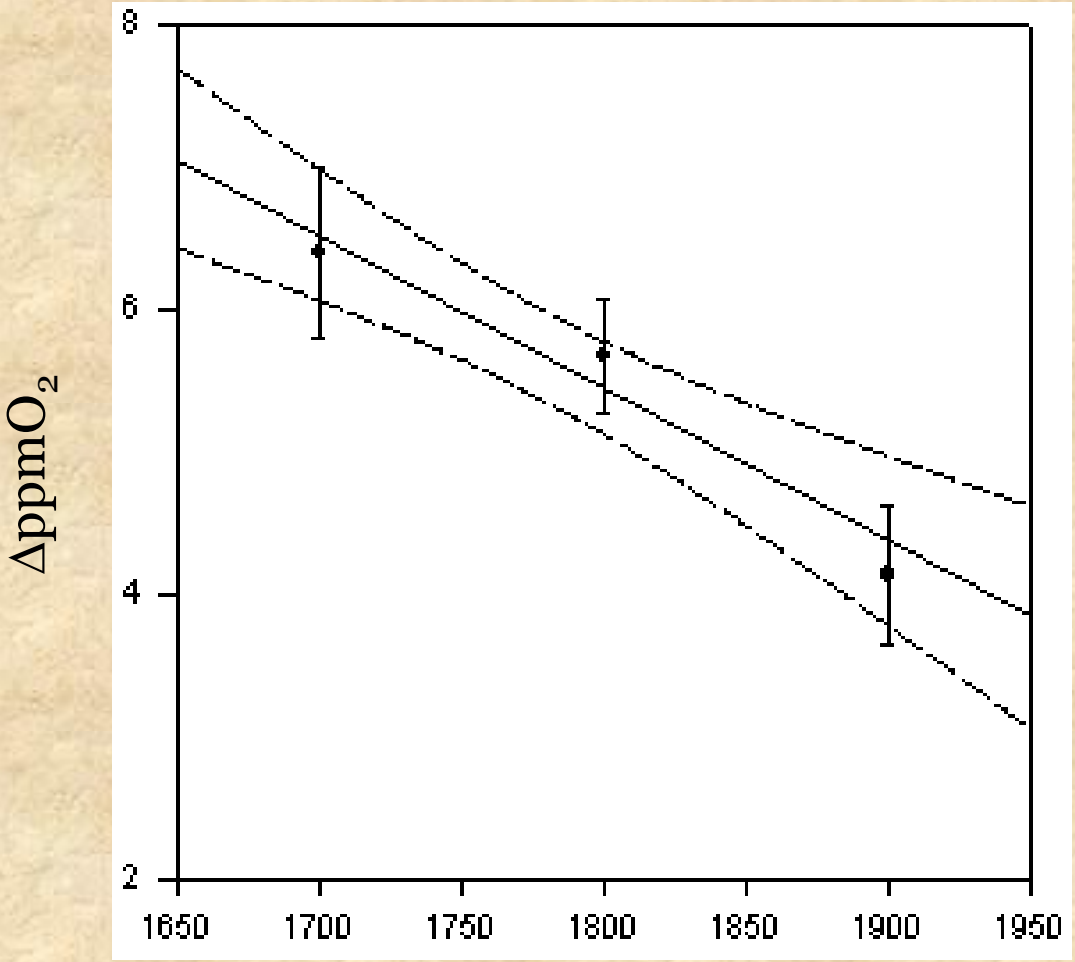


Curve archeometriche ottenute con il biosensore per la datazione di reperti lignei e per diversi tipi di legno, facendo uso del parametro X

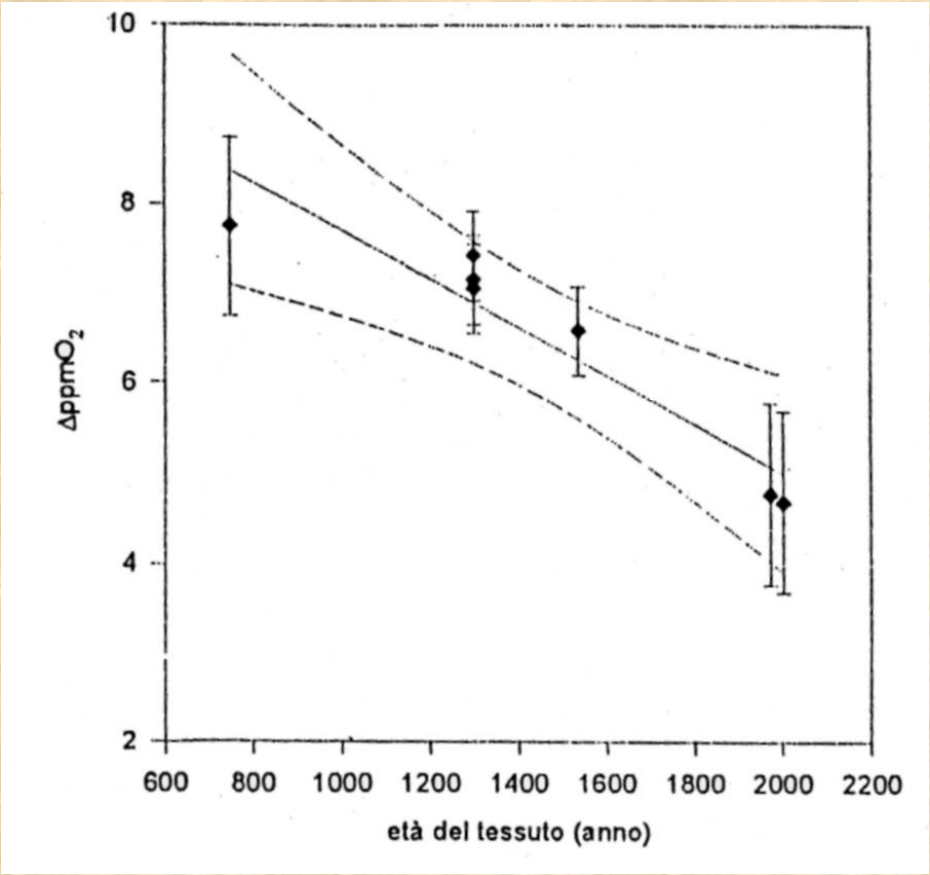
Valori sperimentali ottenuti per il paramentro X
e loro riproducibilità come RSD%, per la datazione
di campioni lignei di pino, moderni o di età diversa
fino a circa il XII secolo.

Età del Pino	Δ ppm O_2 (0-100 s)	X	RSD% (n=5)
10 giorni	4.59	16.44	5.78
50 anni	5.14	18.76	5.60
150 anni c.a.	5.81	21.42	4.81
297 anni c.a.	6.52	23.53	3.88
905 anni c.a.	7.69	38.86	3.65

Campioni di carta XVIII - XX secolo



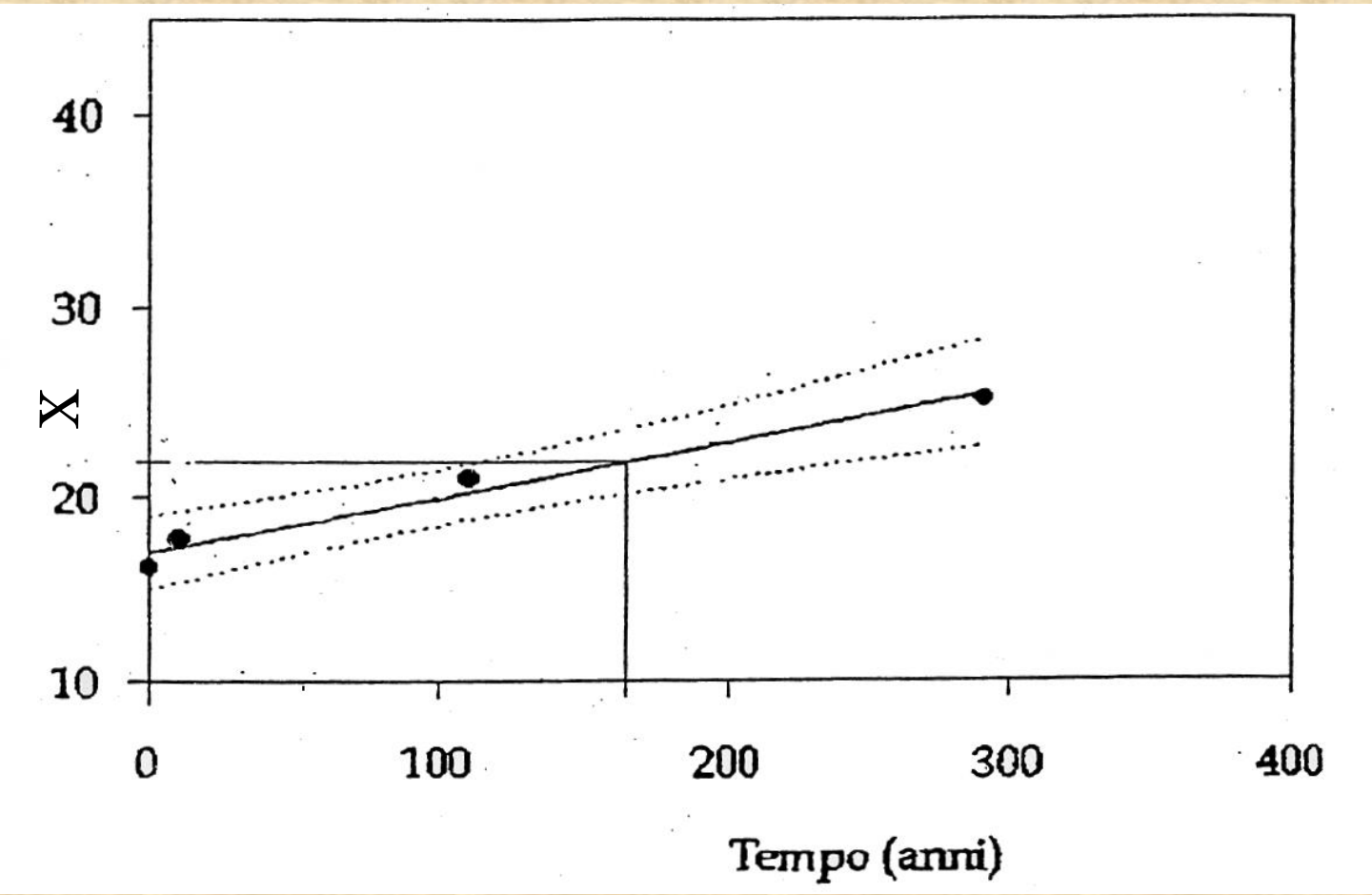
Campioni di tessuto



$Y = (-0.0027 \pm 0.0004)\,X + (10.4 \pm 0.7)$

Y= mg/L di O_2; X= anni di età

$r^2 = 0.8868$; $t = 8.77$; $(1-\alpha) = 0.95$



La figura mostra l'applicazione della curva archeometrica ottenuta con il biosensore facendo uso del parametro X, alla datazione di un reperto ligneo (cornice) sul quale pendeva l'incertezza sull'età (800 o 200 anni) per un restauro successivo

specie lignea	Intervallo di tempo considerato	equazione della retta ($X = \Delta ppm_{02} / m \cdot t$, Y = anni)	r^2
Legno di noce	XX-XVIII secolo	X= 0,0296 Y + 17,05	0,9848

$$X = \frac{\Delta ppm_{02}}{m \cdot t} = \frac{6,084}{0,276 \cdot 120} = 22,04$$

Dove:

Δppm_{02} = 6,084 ottenuto come media di tre determinazioni

m = 0,0023 g peso del legno

tempo = 120 secondi durata della misura

l'equazione della curva di calibrazione, ottenuta facendo uso di campioni datati, è stata:

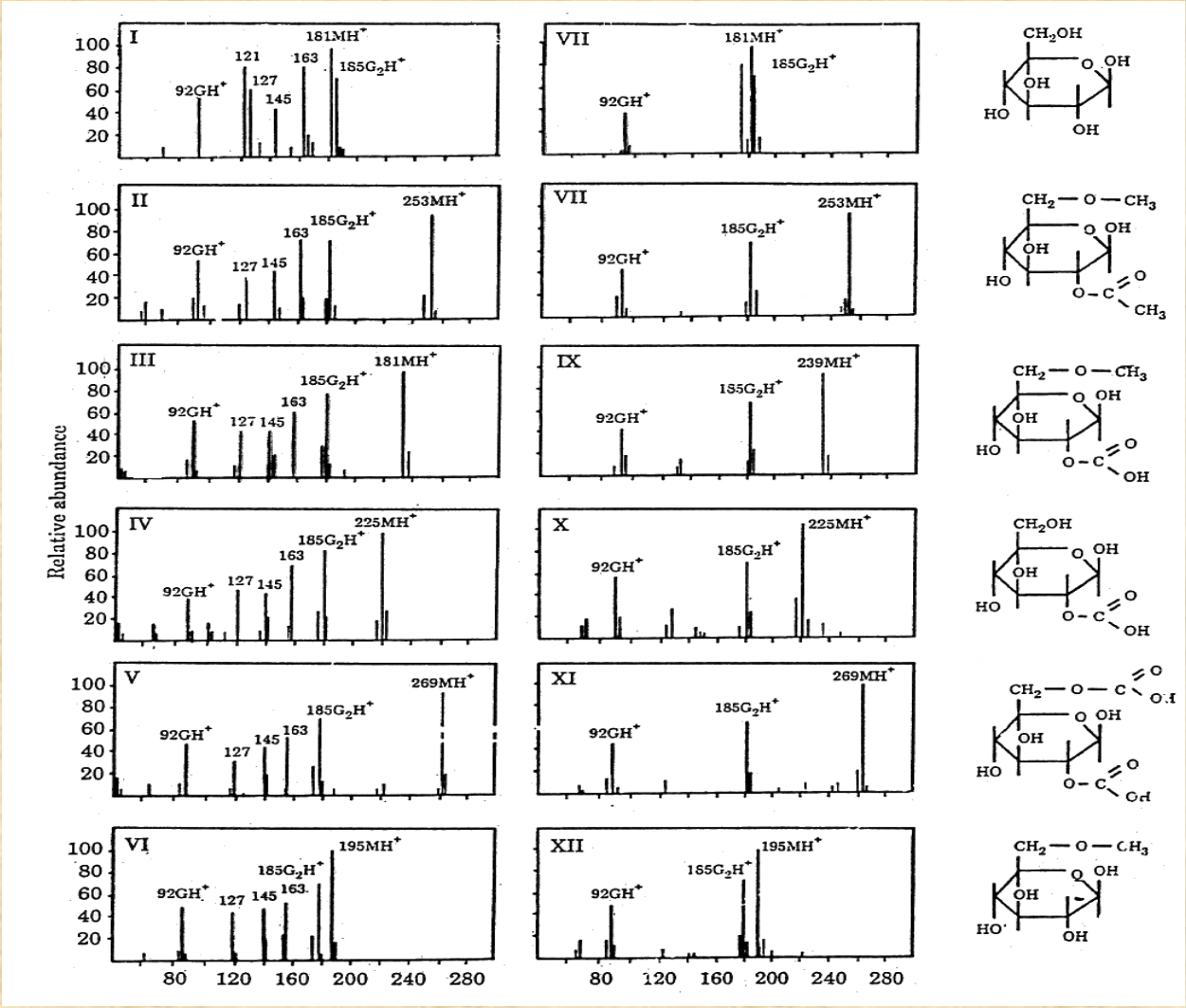
X = 0,0296 Y + 17,05

r^2 = 0,9848

da cui, per X = 22,04 si ha: $Y = \frac{\Delta ppm_{02}}{0,0296}$ 168 (anni)

inoltre, poiché RSD % su Y = 6% si ha: Y = 168 ± 10 (anni)

Spettri di massa di cellulosa diversamente metilata



SMAT: s-adenosilmetionina-transmetilasi

SAM: s-adenosilmetionina; *THFA:* acido tetraidrofolico

Materiale cellulosico

SAMT + SAM +THFA

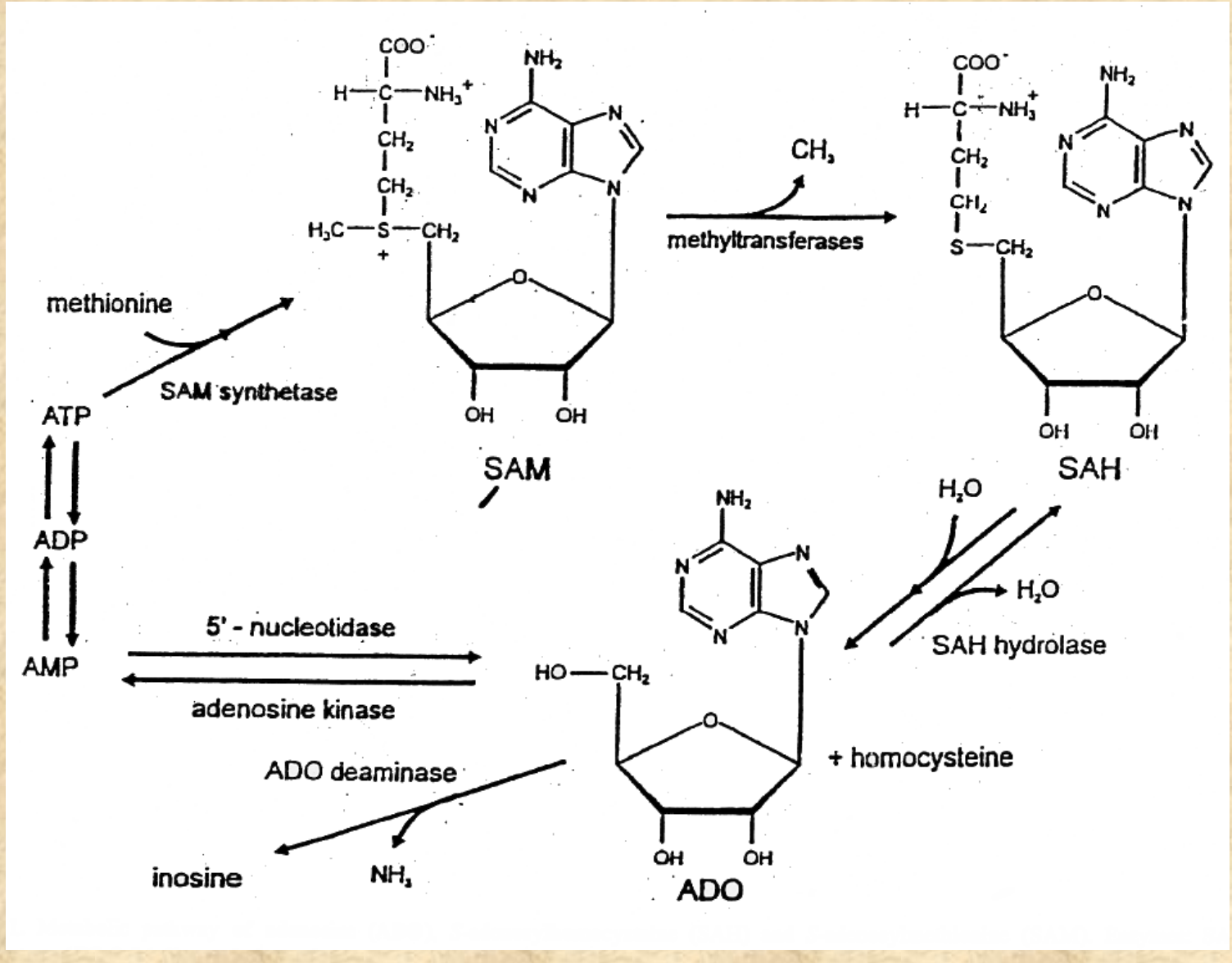
materiale cellulosico demetilato

adenosina

omocisteina

demetilato + adenosina +omocisteina

l'enzima SAMT (S-adenosilmetionina-transmetilasi), catalizza la reazione di demetilazione, in presenza del SAM (S- adenosilmetionina) e del THFA (acido tetraidrofolico), un cofattore che formando un complesso THFA-CH_3, favorisce la successiva demetilazione della cellulosa.



Percorso metabolico di adenosina (ADO), *S*-adenosiIomocisteina (SAH) and *S*-adenosilmetionina (SAM). Enzima: SAM sintetasi (EC 2.5.1.6), metiltransferasi (EC 2.1.1.*), SAH idrolasi (EC 3.3.1.1), ADO deaminasi (EC 3.5.4.4), ADO chinasi (EC 2.7.1.20), 5' -nucleotidasi (EC 3.1.3.5)

SAMT

Con il metodo del SAMT sono stati ottenuti i valori sperimentali riportati in tab. con i quali si è potuta costruire una curva archeometrica

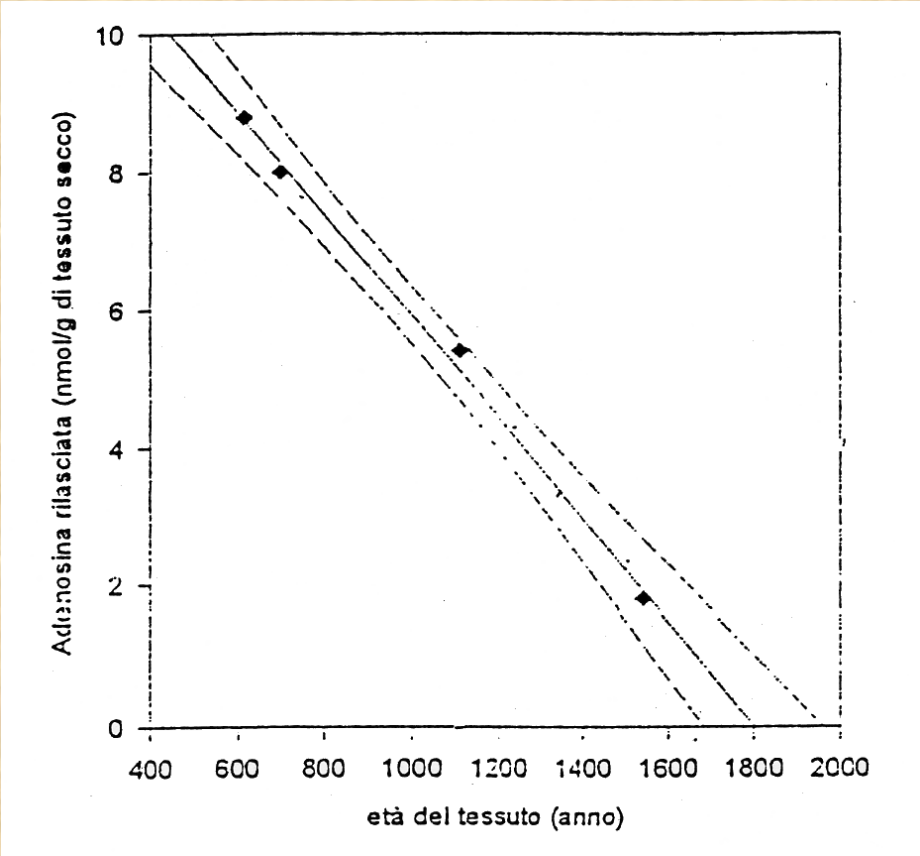
Campione	Età (anno)	Adenosina liberata (µmol/g di tessuto secco) x 10^{-3}	σ
A7	750 d.c.	$8,4_4$	± 1,0
T1	1300 d.c	$5,4_5$	± 0,5
M14	1300 d.c	$4,3_7$	± 0,5
T8	1300 d.c	$4,4_3$	± 0,5
T2	1300 d.c	$5,0_1$	± 0,5
T9	1500 d.c	$2,1_1$	± 0,4
T10	1500 d.c	$2,3_5$	± 0,4
A8	1538 d.c	$3,2_1$	± 0,6
M6	1550 d.c	$2,8_3$	± 0,5
LCF	1972 d.c	$0,5_5$	± 0,5

L'adenosina può essere determinata mediante HPLC

Analiti	Adenosina (ADO), SAM and SAH
Colonna	Supelcosil LC18 (25 cm x 4.5 mm)
Fase mobile	20% MeOH: 80% soluzione: 20mmol/L tampone sodio fosfato (pH = 5.5), 1 mmol/L EDTA, 3% MeOH
Flusso	1 mL/min
Rivelatore	λ= 254 nm

La curva archeometrica riporta l'area del picco dell'adenosina vs l'età del campione

Risultati riportati in letteratura con il metodo del SAMT su campioni di tessuto di epoche diverse



$Y = (-0.0074 \pm 0.0003)\ X + (13.3 \pm 0.3)$

Y = nmol/g di adenosina; X= anni di età

$r^2 = 0.9962$; $t = 4.59$; $(1-\alpha) = 0.95$

Il confronto fra i due metodi dimostra
che il primo metodo è circa settanta volte più
sensibile del secondo 7000 nmol/g anno
vs 100 nmol/g anno; è molto più rapido,
più semplice, più economico e meno distruttivo.

Progetto di Ateneo

Luigi Campanella

Agostina Congiu Castellano

Marcello Colapietro

Carlo Coluzza

Francesco De Luca

Giovanni Gigante

Mauro Missori

Mauro Tomassetti

L’invecchiamento della carta è dovuto
a variazioni della struttura della cellulosa
come idrolisi, ossidazione,
biodegradazione, fotodegradazione
e rigonfiamento delle fibre.

Progettazione e realizzazione
di un fotosensore ottenuto combinando
una sorgente di luce UV
con un catalizzatore semiconduttore
caratterizzato da una band gap quanto
più possibile uguale all'energia
della radiazione incidente. Al variare
della molecola della cellulosa a causa
del processo di invecchiamento, ne risulta
abbassata la stabilità chimica
che si propone di misurare
con un fotosensore.

L'irradiazione UV del TiO_2 (3,2 eV) porta alla promozione di elettroni dalla banda di valenza alla banda di conduzione con conseguente produzione di lacune elettroniche:

$$TiO_2 + h\nu \longrightarrow TiO_2\,(e^- + h^+) \longrightarrow TiO_2\,(e^-_{cb} + h^+_{vb})$$

Il meccanismo principale della fotodegradazione consiste nella produzione di radicali idrossilici e superossido ottenuti rispettivamente dalle reazioni tra le lacune elettroniche e l'acqua e fra i siti elettronici nella banda di conduzione e l'ossigeno. Questi radicali reagiscono con il legno degradandolo.

$h^+_{vb} + H_2O \longrightarrow OH^{\bullet}$

$OH^{\bullet}$ + legno $\longrightarrow$ degradazione del legno ($CO_2 + H_2O$ + acidi minerali)

$e^-_{cb} + O_2 \longrightarrow O^{\bullet -}_2$

Il TiO_2 opportunamente sensibilizzato

può anche agire

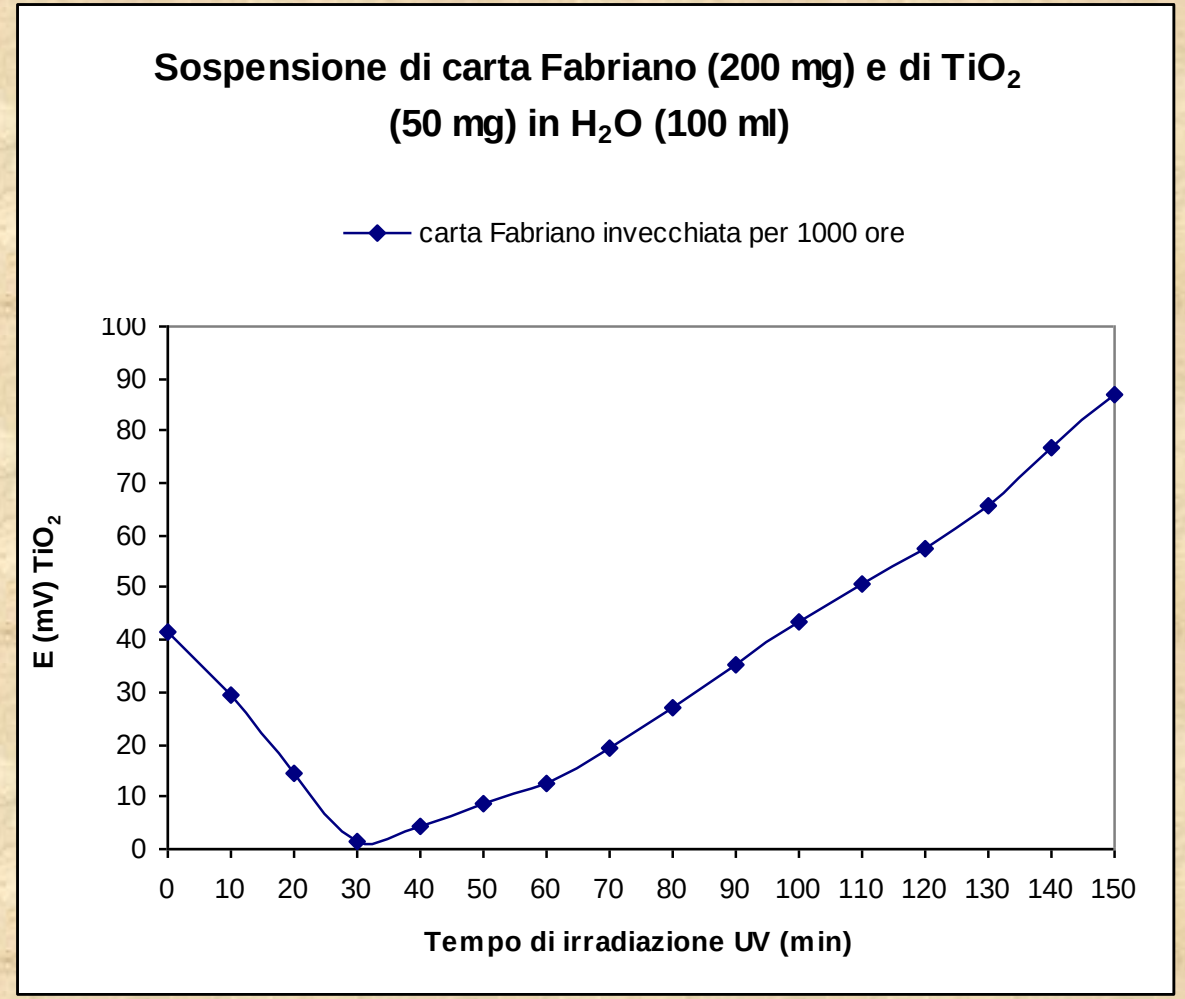
da indicatore di pH

zcp ⟶ né $H^+ > OH^-$

né $OH^- > H^+$

Le curve del pH vs tempo hanno il seguente andamento: dapprima il potenziale del TiO_2 diminuisce (il pH aumenta) per il più rapido consumo di OH^- che H^+, raggiunge un minimo, dopo un certo tempo la pendenza cambia e il potenziale incomincia ad aumentare (il pH diminuisce) per formazione di CO_2 ed acidi inorganici

Esempi di curva sperimentale



INDICI DI VALUTAZIONE

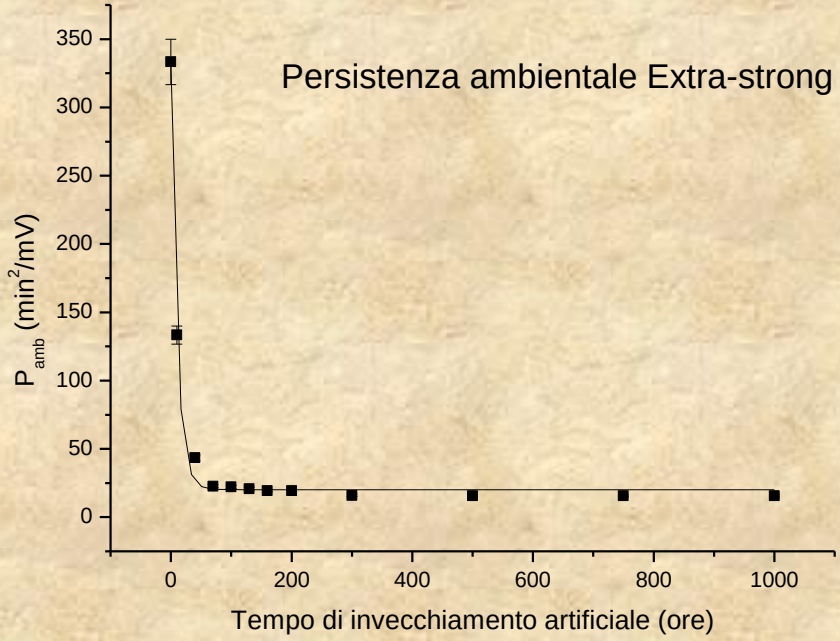
- Persistenza ambientale P_{env}:

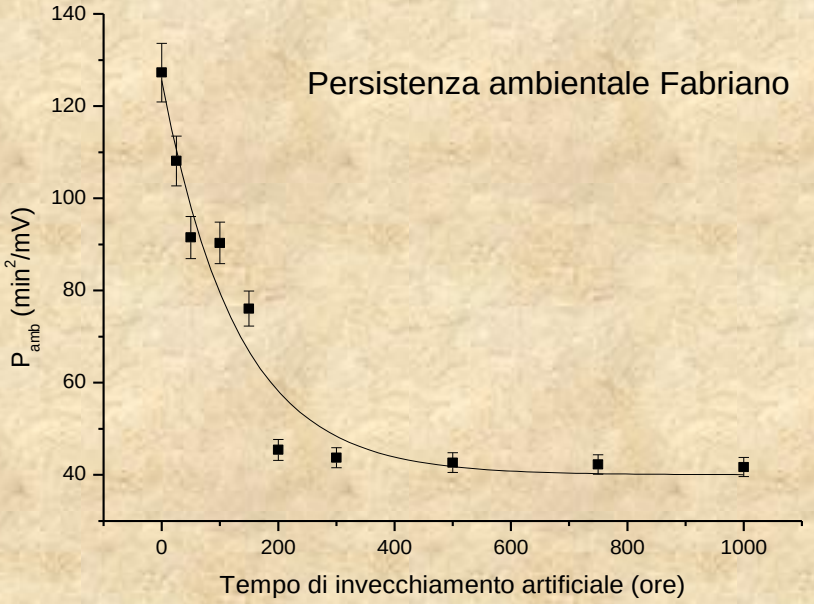
$$Pamb = \frac{\Delta t}{s_{TiO_2}}$$

- Δt = tempo di attivazione;

- s_{TiO_2} = pendenza della curva del potenziale del TiO_2 in funzione del tempo di irradiazione (con Polilight® a 350 nm).

Persistenza ambientale





Condizioni di invecchiamento artificiale

Veterometro QUV Weathering Tester - Modello QUV/spray Q- Panel LAB - Products

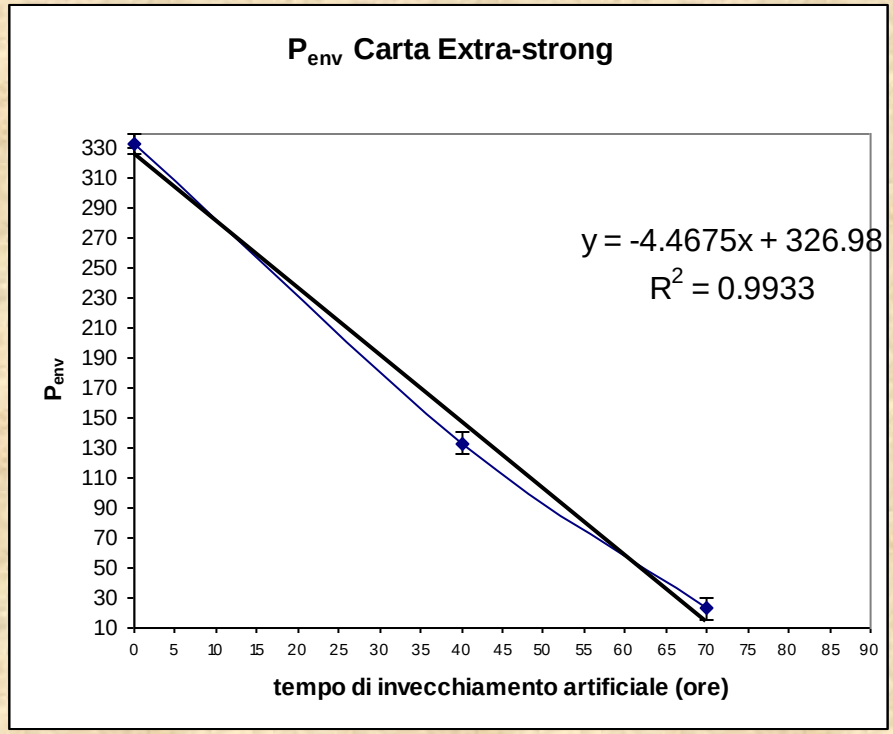
$T = 45^{\circ}C$

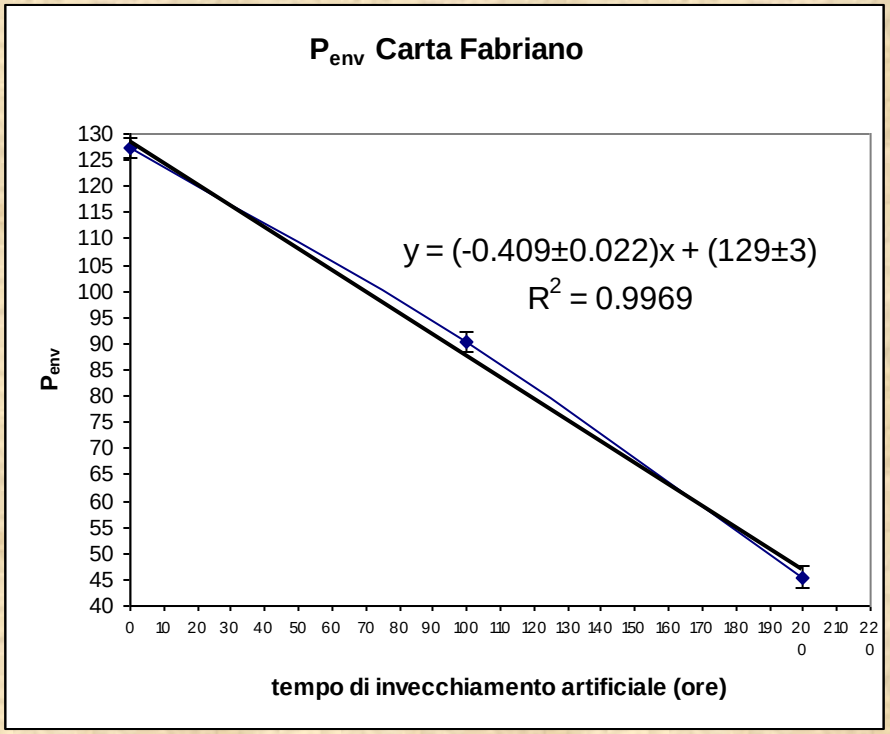
$\lambda = 310$ nm

$H = 58\ \%$

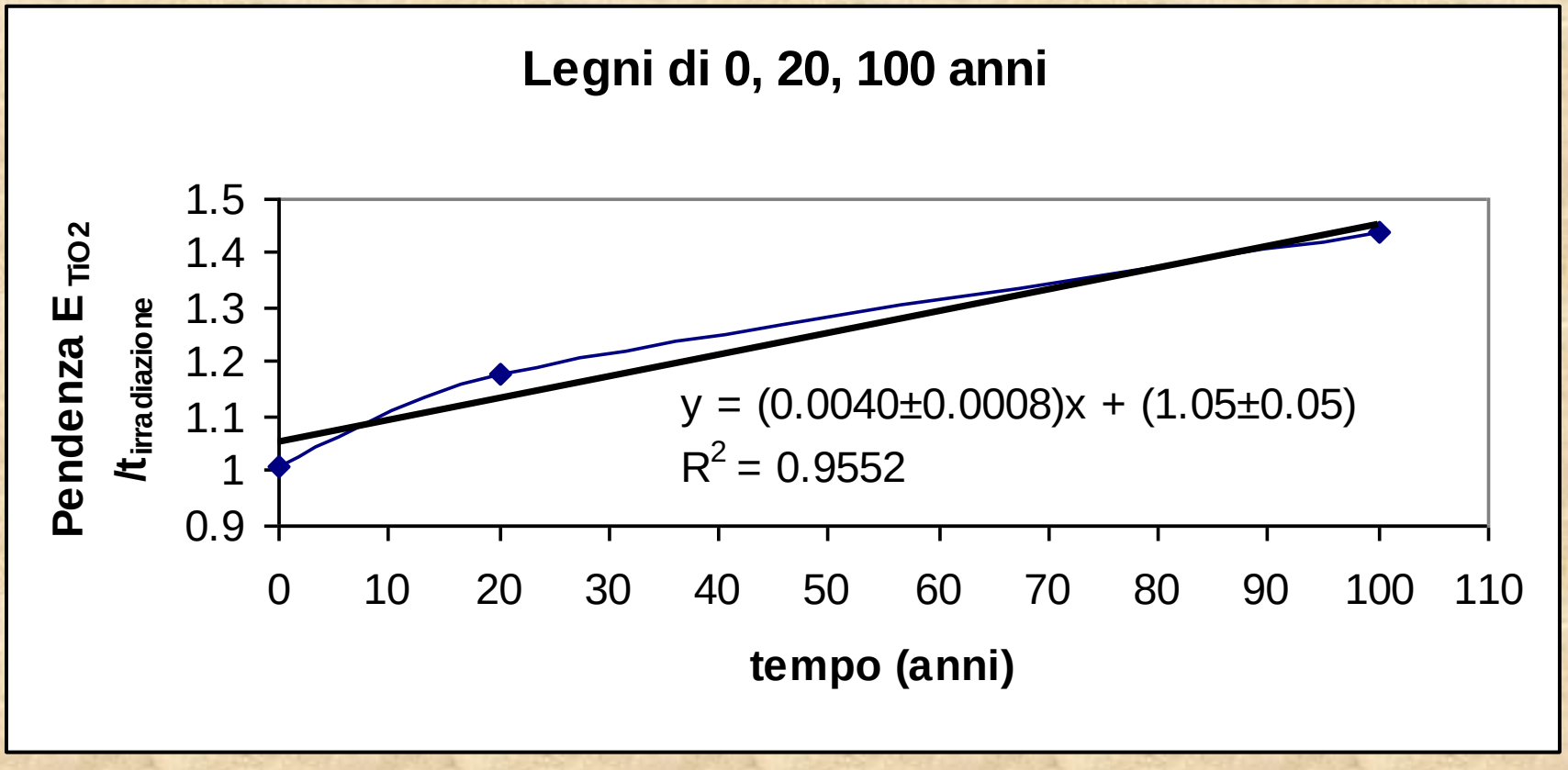
Persistenza ambientale

$$P_{env} = \frac{\Delta t}{S_{TiO2}}$$





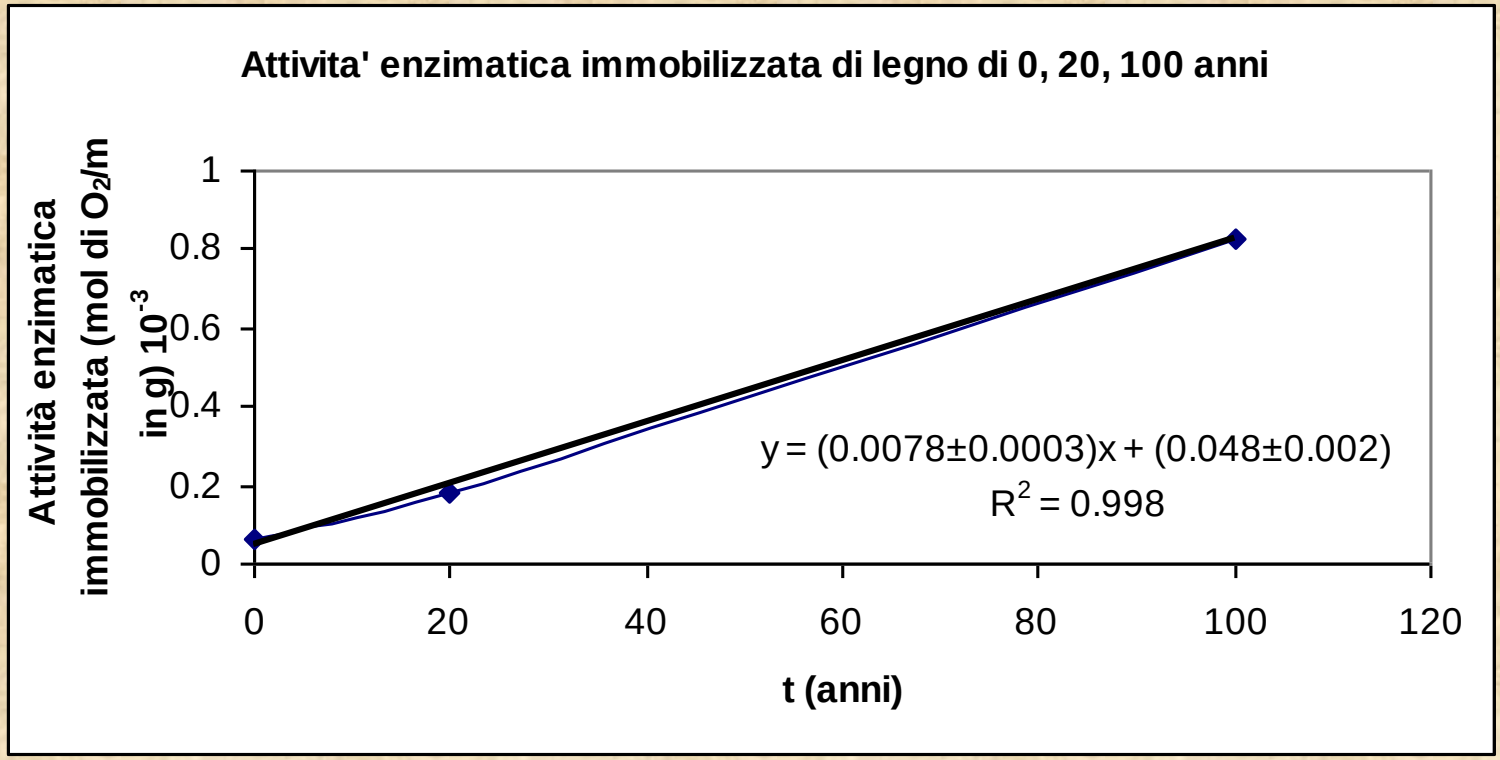
Schema dell'apparecchiatura



Pendenza della curva $E_{TiO_2}/t_{irradiazione}$ vs tempo di invecchiamento naturale per legni di noce di 0, 20, 100 anni.

Essendo Δt_{att} =O risulta P_{env}= O; indicatore assunto s_{TiO_2}

Confronto con Metodo biosensoristico basato sulla valutazione della carbossilazione



Attività enzimatica immobilizzata vs tempo di invecchiamento naturale per legni di noce di 0, 20, 100 anni

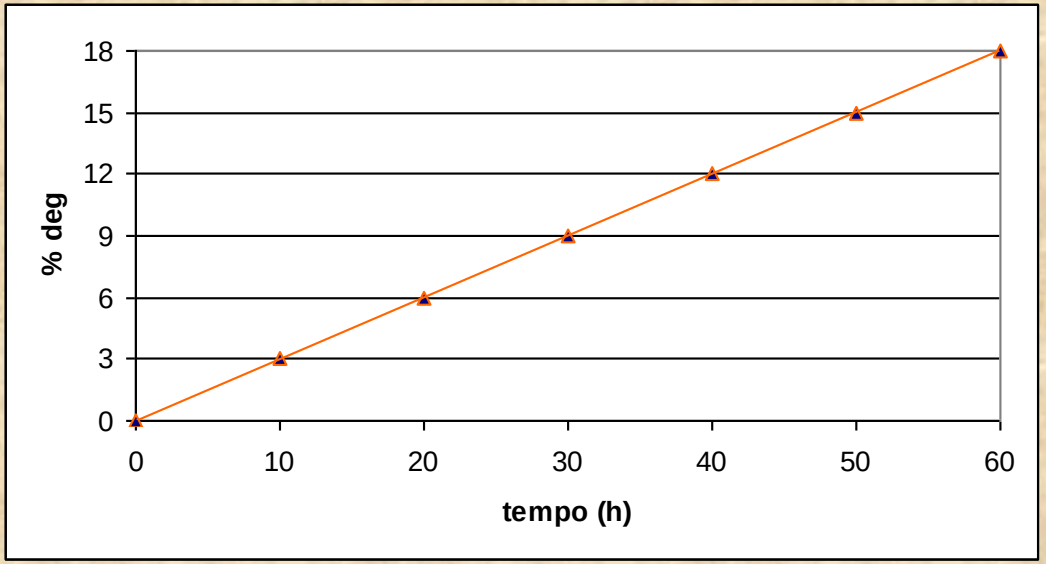
Variabilità dei processi

Sono stati considerati tessuti (lino e seta) di provenienza geografica diversa conservati in condizioni diverse non estreme ed assolutamente normali (p_{amb} 1,0 ±0,1 atm, umidità relativa 30-80 %, temperatura 20-45ºC)

$$\Delta_{COOH} = 10 \pm 2\ \%$$

$$\Delta_{CH_3} = 8 \pm 3\ \%$$

Influenza dell'emicellulosa

Non si sono rilevata variazioni nella cinetica di degradazione all'aumentare del tempo di invecchiamento artificiale

Andamento lineare che esclude due processi successivi relativi il primo alla degradazione della emicellulosa (più veloce) ed il secondo a quello della cellulosa (più lento)