



## **ANALYSIS OF RUBBER SAMPLES BY PY-GC/MS FOR FORENSIC PURPOSES**

Tomasz LACHOWICZ<sup>1</sup>, Janina ZIĘBA-PALUS<sup>2</sup>, Paweł KOŚCIELNIAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Jagiellonian University, Faculty of Chemistry, Kraków, Poland

<sup>2</sup> Institute of Forensic Research, Kraków, Poland

### **Abstract**

A procedure for the analysis of rubber samples by pyrolysis-gas chromatography (Py-GC/MS) was optimized and validated. The performance of the analytical procedure was checked by analysing samples of rubber collected from car tire treads. The estimated optimal temperature and time of pyrolysis were found to be 550°C and 15 s respectively. The method requires very small amounts of sample and allows for several repetitions of analysis in a single day. Analytical results were obtained with very good repeatability of retention times ( $RSD < 1\%$ ) and acceptable to satisfactory repeatability of relative peak area ( $RSD < 30\%$ , typical 10%). As a result, it can be concluded that a rapid and simple method was developed, offering valuable information on the chemical composition of rubber samples constituting criminalistic traces.

### **Key words**

Pyrolysis; Gas chromatography; Rubber; Tires; Chemical analysis.

*Received 25 June 2012; accepted 21 September 2012*

### **1. Introduction**

Forensic experts very often analyse traces of polymer substances such as fragments of paint and tapes or other polymers originating from various sources. Traces of rubber can be included in the last group. Rubber is commonly encountered in the human environment in the form of rubber objects such as car tires, (shoe) soles and various tool handles and grips. Traces of rubber, very often in the form of smears (abrasions), can be a valuable source of information about crime circumstances and can also be useful in linking suspected tools (and, indirectly, their users) with the scene of a crime [1, 3, 5, 6]. In such cases, comparative physicochemical analyses are carried out aimed at establishing the degree of similarity in chemical composition between the recovered trace and the object (control sample) from which it could have originated. In the case of a lack of control (comparative) material, it is possible to carry out identification analyses with

the aim of determining the kind of object from which the given trace could have originated.

Chemical analysis of rubber traces is a difficult task because of the specific physicochemical features of rubber (limited transmission of electromagnetic radiation in the IR-Vis-UV range, limited solubility in organic solvents, large amounts of additives such as carbon black or silica). Therefore, application of standard analytical methods used in forensic practice in analysis of polymer traces (e.g. FTIR spectroscopy) is very difficult or even impossible in the case of rubber traces [5]. Concerning other methods, in the literature there is information on the application of thermogravimetric analysis (differential scanning calorimetry) to the analysis of latex gloves [2].

The pyrolysis gas chromatography (Py-GC/MS) method is based on transforming a solid polymer sample into gas by heating the sample in an atmosphere of inert gas (helium) in a pyrolyser (Py), which is accompanied by thermal decomposition. The obtained

mixture of compounds (pyrolysate) is separated on a chromatographic column in a chromatograph (GC). The separated compounds are analysed in a mass spectrometer (MS). The chemical compounds obtained during pyrolysis do not always correspond to the chemical composition of the rubber product being pyrolysed, but they are characteristic for the particular type of material. The composition of the obtained mixture (qualitative and quantitative) depends strictly on such factors as the applied method of pyrolysis and the cross-linking of the analysed polymer [7]. Identification of the obtained compounds is carried out on the basis of information on retention times and mass spectra. The process of pyrolysis can also be supported by the chemical derivatisation process, which allows identification of non-volatile compounds, such as polyols, carboxylic acids, unsaturated fatty acids and other additives which react with the derivative (methylation) [1].

Until now, there have only been a limited number of scientific papers on the application of the Py-GC/MS method to rubber analysis for forensic purposes [5, 6]. Therefore, for this paper, research was undertaken at the Institute of Forensic Research, Kraków, Poland on developing an overall analytical procedure for differentiation of two types of tires, i.e. winter and summer types, taking into account the specific physicochemical features of the rubber mixtures used in them. Analytical conditions (temperature, time of pyrolysis and sample size) were optimized and the repeatability of the obtained results was evaluated. The possibility of differentiation of the chemical composition of the two types of tires on the basis of the developed analytical method with and without application of the derivatisation process is also discussed.

## 2. Materials and methods

6 samples of rubber collected from used (car) tire treads (IFR collection) were analysed in the research. They originated from two kinds of tires, i.e. summer type (samples described as SBR 1, SBR 2 and SBR 3) and winter type (samples described as NR 1, NR 2 and NR 3).

10% (v/v) aquatic solution of tetramethylammonium hydroxide (TMAH) was used for derivatisation. It was made by 2.5 times dilution of 25% solution of TMAH (Merck, Germany).

A PyroProbe 2000 pyrolyser (CDS Analytical, USA) was used in the performed research. It has a platinum coil, which enables heating of a sample to any temperature within the range 240–1300°C at

a rate of up to 20000°C·s<sup>-1</sup>. It is also possible to create own temperature programs (e.g. gradual heating in several stages and/or heating of sample with a slow but constant increase of temperature). Products of pyrolysis were separated on a DB-35MS column (J&W Scientific, USA) – 30 m length, 0.25 mm diameter and 0.25 µm stationary phase film thickness. It is a medium polar column, whose stationary phase is a mixture of 35% diphenyl polysiloxane and 65% dimethyl polysiloxane. Helium at 73 kPa was used as a carrier gas. The column was installed in an AutoSystem XL gas chromatograph (PerkinElmer, USA). In the research, a temperature program used previously for analysis of car paints was applied [8]: an initial temperature of 40°C was held for 2.5 min; ramped 10.5°C min<sup>-1</sup> up to 320°C, and then 320°C was maintained for 5 min. Chromatograms were recorded by a TurboMass Gold (Perkin Elmer, USA) quadrupole mass spectrometer in the range 35–500 m/z. Electron ionisation (EI) at a temperature of 180°C was applied.

At least three measurements were taken for each sample in each of the analytical conditions.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Conditions of sample preparation

Special attention was paid to the sample weight at the stage of sample preparation. Experiments showed that a cube-shaped sample (cut from a larger rubber fragment) with sides ca. 0.3 mm has weight ca. 60 µg (estimated on the basis of calculations). This sample size was sufficient to obtain repeatable results. It did not cause distortion of peaks on chromatograms (because of column overloading) and it was possible to obtain numerous small samples from both the control rubber object and the evidence sample in the form of a smear (abrasion) left on a surface (road). During research, special care was taken to ensure that all samples prepared in this way were of similar dimensions (and hence also weight).

A sample was placed in a quartz tube filled with quartz wool to half of its capacity. Quartz wool prevents a sample from moving during placing of the pyrolyser probe at the pyrolyser interface. It also (in the case of pyrolysis with application of derivatization) adsorbs the derivatization agent, and then releases it during the derivatisation process. An additional advantage of the application of quartz wool (in comparison to previously used quartz rods) is its low thermal capacity, which does not significantly influence the process of sample heating. If necessary, 3 µl 10% aqueous

solution of TMAH was added to the sample by means of a microsyringe. A sample prepared in such a manner was placed in the pyrolyser and then pyrolysis of the studied sample was carried out at a predetermined temperature.

It was ascertained that in the case of application of derivatisation using an aqueous solution of tetramethylammonium hydroxide (TMAH), the highest efficiency of this process (measured on the basis of relative peak areas of methyl esters of fatty acids) was obtained for samples pyrolysed directly after addition of the derivatisation agent (Figure 1).

Lengthening the time of evaporation of TMAH causes a drop in derivatisation efficiency. The observed dependency may be explained by the fact that TMAH does not react directly with the polymer sample but with products of its pyrolysis. During measurements, special attention should also be paid to the necessity of application of solvent delay in signal registration in the range 1.00–1.70 min with the aim of avoiding an extended peak originating from excess of trimethylamine, which is obtained during pyrolysis of TMAH.

### 3.2. Conditions of pyrolysis

Firstly, the influence of pyrolysis temperature on the qualitative and quantitative content of the obtained products of rubber pyrolysis was analysed. To this

end, rubber samples were pyrolysed at various temperatures in the range 400–750°C (every 50°C) and with a pyrolysis time of 10 s. For each temperature, a sample was measured three times. However, the applied method of sample preparation did not ensure sufficient precision of collection of samples (i.e. of constant, known weight). Therefore, a decision was made that normalization of chromatograms should be performed and information on normalised peaks should be applied in the interpretation of the obtained results. Normalisation should be in relation to one selected peak (corresponding to a given compound). This peak should be present in all analysed samples and its intensity (peak area) should be sufficiently large and easy to determine (i.e. the peak should be not overlapped by other peaks). In the case of analysis of rubber samples originating from car tires, no single compound (peak) could be selected which had all these features. Therefore, it was decided to preliminarily divide the analysed samples on the basis of the dominant polymer component.

In the case of samples of styrene-butadiene rubber (SBR), normalisation was carried out in relation to styrene peak area. In the case of natural rubber samples, normalisation was performed in relation to peak area of limonene, which is a dimer of the basic structural unit of natural rubber, i.e. isoprene. The peak area of limonene was also used for normalisation in cases

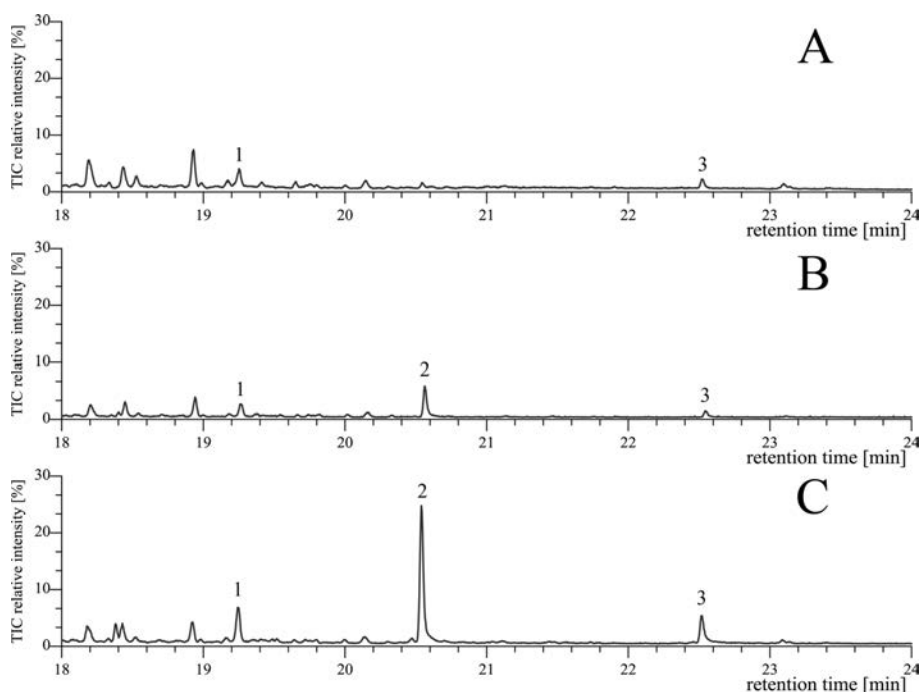


Fig. 1. Chromatograms of derivatised rubber samples: A – sample dried for 15 min in ambient temperature and 5 min. in pyrolyser interface, B – sample dried for 15 min in ambient temperature, C – sample not dried.

where the analysed sample was a mixture of natural rubber (NR) and styrene-butadiene rubber (SBR) and the peak area of limonene was equal to or larger than the value of half of the peak area of styrene.

Chromatograms of samples of SBR 3 rubber are presented in Figure 2; they were obtained after pyrolysis at temperatures of 400, 550, 600 and 750°C. Since the analysed sample was of the SBR type, the peaks on chromatograms were normalised in relation to the height of the styrene peak (5).

Chromatograms of samples pyrolysed at a temperature of 400°C contained a very intensive aniline peak (9) and also peaks originating from the main products of pyrolysis of styrene-butadiene rubber, e.g.: 4-vinylcyclohexene (4), styrene,  $\alpha$ -methylstyrene (7) and indene (10). A limonene peak was also observed (8) and weak peaks originating from isocyanatobenzene (6) and 1,3-diphenylpropane (12). On chromatograms of samples pyrolysed at a temperature of 550°C, a significant increase in number of peaks was observed. Apart from peaks visible on chromatograms obtained at a temperature of 400°C, the following peaks were

also present: 1,3-butadiene (1), benzene (2), toluene (3) and biphenyl (12). In comparison to a temperature of 400°C, the relative peak areas of aniline, limonene and 1,3-diphenylpropane decreased (without deterioration of their shape and signal to noise ratio), which was caused by an increase in styrene peak area (used for normalisation). At a temperature of 600°C, an increase in intensity of small peaks was observed within the range of retention times 10–15 min. These small peaks originated from derivatives of phenol and were obtained as a result of degradation of the styrene-butadiene chain. These peaks are not very useful from the point of view of comparative analysis as they are present in most rubber mixtures. They also cause problems in interpretation of results (because of peak overlapping, a higher baseline level and difficulties in precise determination of peak area). On chromatograms obtained for samples pyrolysed at a temperature of 750°C, an intensive peak of naphthalene (11) and a significant increase in the intensity of biphenyl and allylbenzene peaks were observed. The peak originating from allylbenzene overlapped with an aniline peak

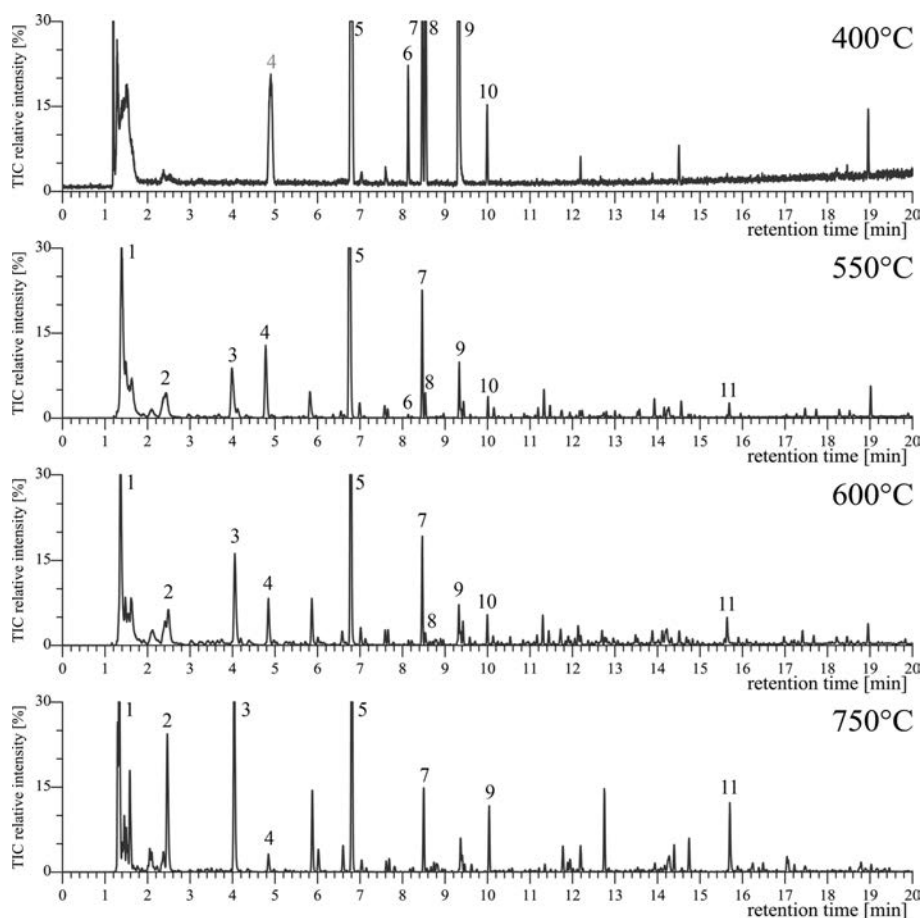


Fig. 2. Chromatograms of SBR samples obtained at different pyrolysis temperatures (peak descriptions in text).

(9), which made it impossible to precisely determine its peak area. Moreover, a significant decrease in relative peak intensity was observed in the range of retention time from 10 to 13 min.

Therefore, a pyrolysis temperature of 550°C was selected as being most useful. At this temperature, the raw intensity of obtained peaks (signal/noise ratio) is relatively large, and the number of peaks that are useful for comparative analysis (whose intensity depends to a large extent on the composition of the analysed rubber) was sufficient.

The influence of pyrolysis time on obtained results was also analysed at the selected temperature, i.e. 550°C, and at the following times of pyrolysis: 5, 10, 15 and 20 s. In the analysed range of times, no significant influence of time of pyrolysis on number and quality of obtained peaks of chemical compounds or their peak areas was observed. Therefore, a time of 15 sec was selected as the most suitable.

### 3.3. Repeatability of measurements

Analyses of samples originating from both rubber categories (i.e. SBR 1 and NR 1) were carried out with the aim of evaluating the repeatability of retention times and relative intensities of obtained peaks. Analysis of each sample was carried out five times. The intensities of particular peaks were normalised in relation to the intensity of the styrene peak (in the case of the SBR 1 sample) and the limonene peak (in the case of the NR 1 sample). The results of analysis of main components (of relative intensity above 3%) are presented in Table I.

Retention times showed very good repeatability (in most cases  $RSD < 0.7\%$ ), which confirms the high stability of the process of chromatographic separation (stable values of pressure and temperature). However, important differences in intensities (areas) of peaks originating from particular components of analysed rubber samples (in the case of some compounds,  $RSD$  was greater than 30%) were observed. The most probable causes of the observed problem may be not only difficulties in obtaining a constant weight of the analysed samples, but also difficulties in keeping the location of the samples in the pyrolyser the same. For it was observed that it is possible for a sample to move in the pyrolyser in relation to its original location. A consequence of this is a change in temperature which the sample is subjected to. Other sources of error could be the heterogeneity of the analysed rubber samples, which is a result of the manufacturing process and the unsatisfactory repeatability of pyrolysis temperature (conditioned by the structure of the pyrolyser).

TABLE I. REPEATABILITY OF BOTH RETENTION TIME AND RELATIVE INTENSITY OBTAINED FOR SUMMER (SBR 1) AND WINTER (NR 1) RUBBER BLENDS

Sample	Compound name	Retention time		Relative intensity	
		Mean [min]	$RSD$ [%]	Mean	$RSD$ [%]
SBR 1	Buta-1,3-diene	1.35	0.8	0.816	5.0
	Benzene	2.48	1.1	0.100	6.9
	Toluene	4.05	0.7	0.294	3.8
	4-vinylcyclohexene	4.85	0.5	0.119	5.5
	Xylene	5.87	0.4	0.129	3.9
	Styrene*	6.79	0.3	–	–
	Isopropylbenzene	7.03	0.2	0.062	8.9
	$\alpha$ -methylstyrene	8.43	0.1	0.306	6.1
	Aniline	9.34	0.1	0.114	4.0
	Benzothiazole	13.89	0.1	0.046	27.9
	Biphenyl	15.64	0.1	0.036	8.7
NR 1	Isoprene	1.46	0.5	1.361	5.4
	Toluene	4.01	0.3	0.076	7.9
	4-vinylcyclohexene	4.80	0.1	0.182	6.6
	Xylene	5.96	0.1	0.044	16.6
	Styrene	6.73	0.1	0.128	25.6
	Limonene isomer	6.98	0.1	0.084	26.9
	Limonene*	8.49	0.1	–	–
	Aniline	9.28	0.1	0.048	31.3
	Indene	9.94	0.1	0.090	11.9
Benzothiazole	13.82	0.1	0.031	6.6	

\* Standards used for normalization.

### 3.4. Results of comparative analysis

A preliminary visual analysis of differences in chemical composition of the analysed samples was carried out. Two samples of summer tires (SBR 1, SBR 2) and two winter tires (NR 1, NR 2) were subjected to analysis (in the same, optimal conditions). Results obtained for samples SBR 1, SBR 2 and NR 1 without application of the derivatisation process are presented in Figure 3.

It can be concluded on the basis of the obtained results that characteristic peaks for tires made of styrene-butadiene rubber originate from buta-1,3-diene (1) and styrene (6), and for tires based on natural rubber, peaks of isoprene (2) and limonene (7). Other peaks originating from benzene (2), toluene (3) and



4-vinylcyclohexene (5) are visible with different intensity on chromatograms of both types of tires.

Differentiation of tires belonging to various groups (produced on the basis of various polymers) is relatively easy because of the presence of intensive peaks originating from the main components of mixtures, which always appear on chromatograms of these samples. However, differentiation of tire samples in the same category (produced on the basis of the same main polymer type SBR and/or NR) is a much more difficult task, as differences in chemical composition result only from the presence of small amounts of additives used during the manufacturing process as well as possible differences in microstructure of the analysed rubber mixtures. From the point of view of comparative analysis, in the case of differentiation of tire samples originating from the same category, the most important peaks (in most cases of weak intensity) are those of:  $\alpha$ -methylstyrene (8) and aniline (9). Their intensity strongly depends on the kind of analysed sample. These peaks are present on all chromatograms obtained for the SBR 2 tire, but are practically invisible on chromatograms of samples collected from the SBR 1 tire. Samples of tires NR 1 and NR 2 did not reveal significant differences which could help in their differentiation (small differences between chromatograms obtained for NR 1 and NR 2 samples were similar to differences between chromatograms observed for 2 samples originating from the NR 1 tire). Therefore,

a derivatisation process was applied with application of aqueous solution of tetramethylammonium hydroxide (TMAH) with the aim of improving differentiation between rubber samples. Chromatograms obtained for samples SBR 1, NR 1 and NR 2 after application of derivatisation are presented in Figure 4.

Chromatograms obtained with application of the derivatisation process for both summer and winter tires were similar to those obtained without application of this process in the range of retention times from 1 to 19 min. However, significant peaks originating from methyl palmitate (2) and methyl stearate (3) were observed on chromatograms obtained for sample SBR 1. A weak peak of methylthio benzothiazole (1) is also visible. On chromatograms of sample NR 1, only a weak peak of methyl palmitate is visible (2); a peak originating from methyl stearate is not visible. Additionally, peaks originating from methyl palmitate (2), methyl stearate (3) and a peak with very weak intensity originating from methylthio benzothiazole (1) are visible on chromatograms of samples originating from a winter tire (NR 2).

Results obtained after derivatisation indicated the possibility of differentiation between the two kinds of tires (summer and winter types), as well as different samples of tires within the summer or winter tires category, which are difficult to differentiate without application of the derivatisation process.

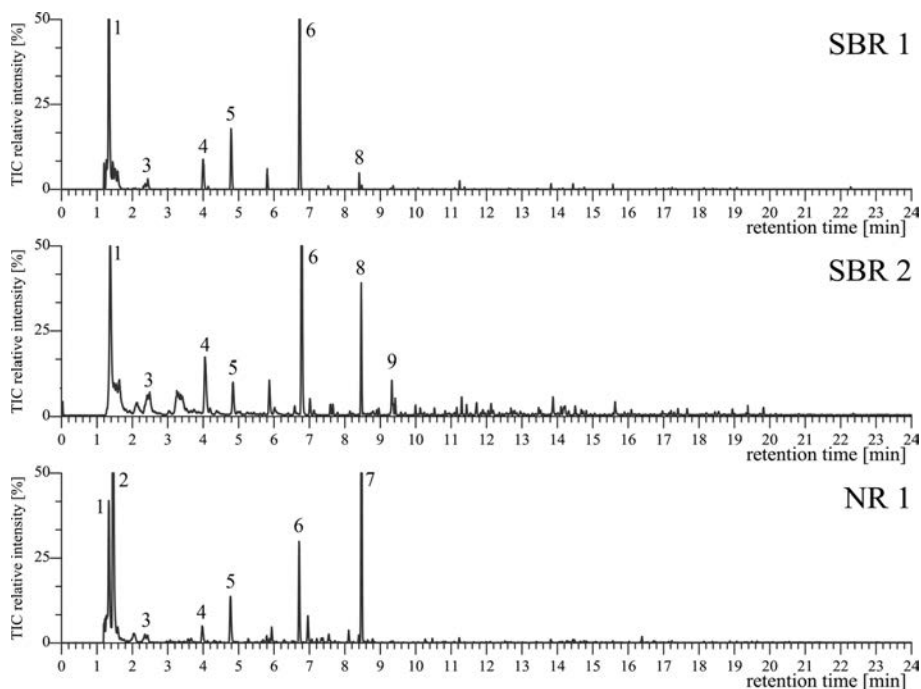


Fig. 3. Chromatograms obtained for summer (SBR 1, SBR 2) and winter (NR 1) tyres without derivatisation (peak descriptions in text).

#### 4. Conclusions

A procedure of analysis of rubber by gas chromatography with application of a pyrolyser with a platinum coil coupled with a GC/MS set was developed. Parameters of the analytical process were selected and validated in such a way that they were suitable for forensic identification and comparison. Application of a mass spectrometer as a detector has some advantages. The most important is that the significant increase in the amount of information delivered during analysis makes the process of interpretation of the obtained results easier (e.g. possibility of directly viewing the mass spectrum of a given peak), even when the retention time for a particular compound is changed (e.g. caused by change of column length). The possibility of observing the mass spectrum is also very useful in the case of peaks of important compounds having similar retention times (e.g.  $\alpha$ -methyl styrene and limonene), thus allowing their correct identification. Application of mass spectrometry also allows us to obtain a chromatogram for a particular  $m/z$  ratio, which significantly improves detection of peaks of compounds having characteristic mass spectra (e.g. aniline,  $m/z = 66$ , benzothiazole,  $m/z = 135$ , biphenyl,  $m/z = 154$ ).

On the basis of analysis of obtained chromatograms, a very good repeatability of retention times

of analysed compounds was achieved, which allows identification of pyrolysis products not only on the basis of mass spectra but also on the basis of their retention times. The Py-GC/MS method can thus be used for qualitative analysis encompassing both identification (group-identification of a rubber sample on the basis of determination of its main compounds) and comparative analysis. A relatively low repeatability was determined (in some cases  $RSD > 30\%$ ) for relative intensities of some chromatographic peaks, which reduces the application of this method in quantitative analysis. During the interpretation of the obtained results, special care should be paid to the intensity of interesting peaks obtained within each of the compared samples (within-object variability), and then intensities between different rubber samples should be compared (between-object variability).

Application of the derivatisation process enables recording of peaks originating from long-chain fatty acids (in the form of their methyl esters), and also the methylthiobenzothiazole peak, i.e. additives present in the rubber mixture. The intensity of these peaks depends on the type of analysed sample and delivers additional information on their content. It was also established that the solution of TMAH applied in the derivatisation process should be added directly before the pyrolytic process (so-called “wet” pyrolysis). The main advantage of the derivatisation process is that it

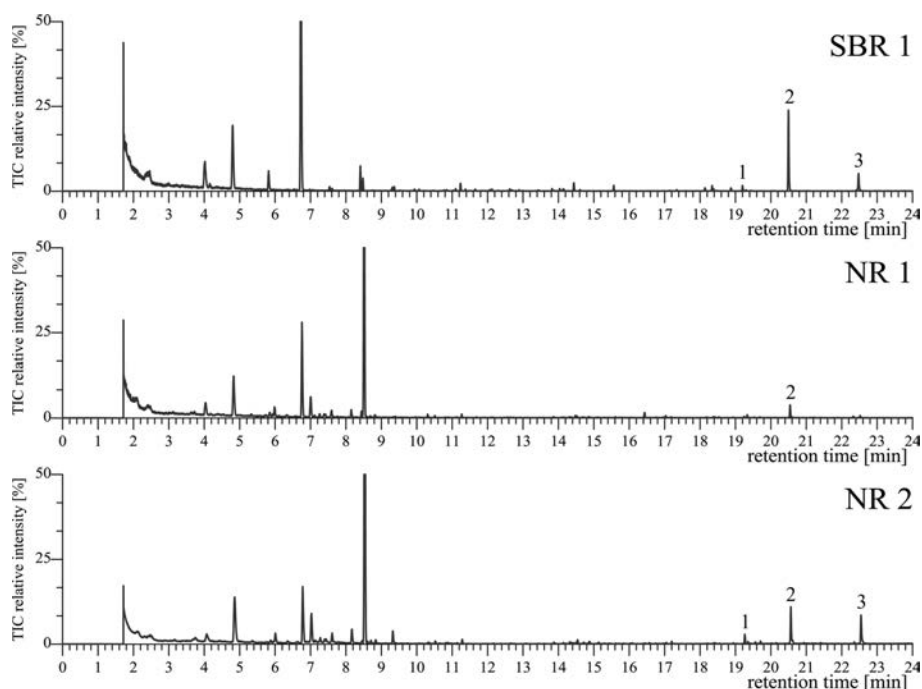


Fig. 4. Chromatograms obtained for summer (SBR 1) and winter (NR 1, NR 2) tyres after derivatisation (peak descriptions in text).

is easy to carry out and also the time of sample preparation for analysis is short and it is not necessary to use additional equipment.

The total time of analysis was ca. 45 min (including the time necessary for the GC/MS set to return to its initial state). Therefore, it was possible to carry out a relatively fast analysis of several samples of rubber during one working day, including at least three repetitions of analysis for each studied sample.

The applied research confirmed that the developed procedure fulfils basic criteria of procedures applied in the forensic field such as: a small amount of sample (60 µg), the possibility of obtaining reliable qualitative results and a relatively short time of analysis. Therefore, this procedure can be used both in the identification process (group identification) and in the comparative analysis of rubber samples. The Py-GC/MS method yields information about many components of the analysed material, which provides an opportunity to differentiate between samples of very similar chemical composition. Such an opportunity is not provided by any other routinely used methods of analysis of polymer samples in the forensic field.

## References

1. Blackledge R. D., Pyrolysis gas chromatography of automobile rubber bumper guard samples, *Journal of Forensic Sciences* 1981, 26, 557–559.
2. Causin V., Marega C., Marigo A. [et al], A method based on thermogravimetry/differential scanning calorimetry for the forensic differentiation of latex gloves, *Forensic Science International* 2009, 188, 57–63.
3. Ding J., Liu H., A study of identification of trace rubber residues in marks from rubber-soled shoes and tyres by Py-GC, *Forensic Science International* 1989, 43, 45–50.
4. Lachowicz T., Zięba-Palus J., Kościelniak P., Application of pyrolysis gas chromatography to analysis of rubber samples, *Problems of Forensic Sciences* 2011, 85, 11–23.
5. Sarkissian G., Keegan J., Du Pasquier E. [et al], The analysis of tires and tire traces using FTIR and Py-GC/MS, *Canadian Society of Forensic Science* 2004, 37, 19–37.
6. Sarkissian G., The analysis of tire rubber traces collected after braking incidents using pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry, *Journal of Forensic Sciences* 2007, 52, 1050–1056.
7. Wampler T., Practical applications of analytical pyrolysis, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 2004, 71, 1–12.
8. Zięba-Palus J., Milczarek J. M., Kościelniak P., Working out conditions of identification and comparative analysis of car paints by pyrolytic gas chromatography coupled with mass spectrometry (Py-GC-MS), *Problems of Forensic Sciences* 2006, 67, 235–248.

---

### Corresponding author

Tomasz Lachowicz  
Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego  
ul. R. Ingardena 3  
30-060 Kraków  
lachowic@chemia.uj.edu.pl

---



## ANALIZA PRÓBEK GUMY METODĄ PY-GC/MS NA POTRZEBY KRYMINALISTYKI

### 1. Wstęp

W praktyce kryminalistycznej biegły ma bardzo często do czynienia ze śladami substancji polimerowych, takich jak okruszki lakierowe, taśmy samoprzylepne czy drobiny tworzyw sztucznych różnego pochodzenia. Do tej grupy można zaliczyć również ślady gumy będącej tworzywem bardzo rozpowszechnionym w otoczeniu człowieka w postaci m.in. przedmiotów gumowych, opon samochodowych, podeszew butów, uchwytów czy rękojeści różnych narzędzi. Ślady gumy, często w postaci otarć, mogą stanowić źródło cennych informacji o przebiegu zdarzenia, a także mogą być pomocne w powiązaniu przedmiotów (i pośrednio ich użytkowników) z miejscem zdarzenia [1, 3, 5, 6]. W takich przypadkach prowadzone są fizykochemiczne badania porównawcze mające na celu ustalenie stopnia podobieństwa składu chemicznego śladu i przedmiotu będącego jego prawdopodobnym źródłem. W przypadku braku materiału porównawczego możliwe jest prowadzenie badań identyfikacyjnych w celu określenia rodzaju przedmiotu, który mógł dany ślad pozostawić.

Analiza chemiczna śladów gumy jest zadaniem trudnym ze względu na jej specyficzne właściwości fizykochemiczne (słaba przepuszczalność promieniowania elektromagnetycznego w zakresie IR-Vis-UV, słaba rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych, duża zawartość napelnaczy, takich jak sadza czy krzemionka). Dlatego też zastosowanie metod analitycznych rutynowo używanych w praktyce kryminalistycznej do badań substancji polimerowych (np. spektrometria FTIR) jest bardzo utrudnione lub wręcz niemożliwe [5]. W odniesieniu do innych metod, w literaturze przedmiotu istnieją wzmianki o zastosowaniu termogravimetrii (skaningowej kalorymetrii różnicowej) w analizie porównawczej rękawiczek lateksowych [2].

Istotą metody chromatografii gazowej z pirolizą (Py-GC/MS) jest przeprowadzenie stałej próbki materiału polimerowego w stan gazowy poprzez szybkie jej ogrzanie w atmosferze gazu obojętnego (helu) w pirolizerze (Py), któremu towarzyszy rozkład termiczny połączony z wytworzeniem mieszaniny związków chemicznych (pirolizatu) poddawanej następnie rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej (GC). Rozdzielone związki są analizowane w spektrometrze mas (MS). Powstałe związki chemiczne, choć nie zawsze odpowiadają rzeczywistemu składowi chemicznemu analizowanych próbek, są charakterystyczne dla danego typu materiału, a ich ilość i rodzaj zależą ściśle od takich czynników, jak zastosowana metoda polimeryzacji czy usieciowa-

nie badanego polimeru [7]. Identyfikacji otrzymanych związków dokonuje się na podstawie czasów retencji odpowiadających im pików, a także odpowiadających im widm masowych. Metoda umożliwia także zastosowanie derywatywacji chemicznej pozwalającej na identyfikację trudno lotnych związków chemicznych, takich jak alkohole wielowodorotlenowe, kwasy karboksylowe, nienasycone kwasy tłuszczowe oraz inne dodatki ulegające reakcji z odczynnikiem derywatyzującym (reakcja metylacji) [1].

Do chwili obecnej pojawiły się zaledwie pojedyncze prace naukowe dotyczące zastosowania metody Py-GC/MS do analizy gumy na potrzeby ekspertyzy kryminalistycznej [5, 6]. Dlatego też w niniejszej pracy postanowiono podjąć próbę opracowania całościowej procedury analitycznej w warunkach instrumentalnych laboratorium Instytutu Ekspertyz Sądowych (IES) w Krakowie z uwzględnieniem specyficznych cech fizykochemicznych mieszanek gumowych dwóch rodzajów opon: letniej i zimowej. W toku badań ustalono optymalne warunki analizy (temperaturę i czas pirolizy, rozmiar próbki) oraz oszacowano powtarzalność otrzymywanych wyników. Sprawdzone również możliwość różnicowania składu chemicznego obu rodzajów opon za pomocą opracowanej metody analitycznej bez stosowania techniki derywatywacji i z zastosowaniem tej techniki.

### 2. Materiały i metody

Materiał do badań stanowiły próbki gumy pobrane z bieżników 6 używanych opon samochodowych (kolekcja IES) należących do dwóch rodzajów: opon letnich (próbki SBR 1, SBR 2 i SBR 3) i zimowych (próbki NR 1, NR 2 i NR 3).

Do derywatywacji próbek gumy zastosowano 10% (v/v) wodny roztwór wodorotlenku tetrametyloamonowego (TMAH) sporządzony przez 2,5-krotne rozcieńczenie 25% roztworu TMAH (Merck, Niemcy).

Do pirolizy badanych próbek zastosowano przystawkę do pirolizy typu PyroProbe 2000 (CDS Analytical, Stany Zjednoczone) z platynowym włóknem oporowym, pozwalającą na ogrzewanie próbki do dowolnej temperatury w zakresie 240–1300°C z szybkością sięgającą 20000°C·s<sup>-1</sup>. Przystawka ta umożliwia również tworzenie programów temperaturowych (stopniowe ogrzewanie w kilku etapach i (lub) powolne narastanie temperatury). Produkty pirolizy rozdzielano na kolumnie DB-35MS (J&W Scientific, Stany Zjednoczone) o długości 30 m, średnicy 0,25 mm i grubości fazy stacjo-

narnej 0,25  $\mu\text{m}$ . Jest to kolumna średniopolarna, której fazę stacjonarną stanowi mieszanina 35% difenylopolisiloksanu i 65% dimetylopolisiloksanu. Jako gazu nośnego użyto helu pod ciśnieniem 73 kPa. Kolumnę zainstalowano w chromatografii gazowej AutoSystem XL (PerkinElmer, Stany Zjednoczone). W badaniach zastosowano wcześniej opracowany program temperaturowy stosowany poprzednio do analiz chromatograficznych lakierów samochodowych [8]: temperatura początkowa 40°C utrzymywana przez 2,5 min, narastanie temperatury w tempie 10,5°C·min<sup>-1</sup> aż do 320°C, a następnie utrzymanie temperatury 320°C przez 5 min. Chromatogramy rejestrowano za pomocą kwadrupolowego spektrometru mas TurboMass Gold (Perkin Elmer, Stany Zjednoczone) w zakresie mas 35–500 m/z. Zastosowano jonizację elektronową (EI) w temperaturze 180°C.

Dla każdego warunków analizy pomiar wykonywano co najmniej trzykrotnie.

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Warunki przygotowania próbek

Na etapie przygotowania próbek do analizy zwracano szczególną uwagę na ich masę. Doświadczenia wykazały, że próbka (wycięta z większego fragmentu gumy) w kształcie sześciangu o boku ok. 0,3 mm ma masę wynoszącą ok. 60  $\mu\text{g}$  (oszacowaną na podstawie obliczeń). Wystarcza ona do uzyskania powtarzalnych wyników, nie powoduje zniekształcenia pików chromatograficznych (wynikającego z przeładowania kolumny) i jest możliwa do wielokrotnego pobrania zarówno z obiektu gumowego, jak i śladu pozostawionego przez obiekt w postaci otarcia na powierzchni (np. nawierzchnia jezdni). W trakcie badań starano się zachować możliwie zbliżone rozmiary (a co za tym idzie masy) wszystkich przygotowywanych w ten sposób próbek.

Próbkę umieszczano w probówce kwarcowej wypełnionej do połowy watą kwarcową. Wata kwarcowa zapobiega przemieszczaniu próbki w trakcie umieszczenia sondy pirolizera w interfejsie, a także (w przypadku analizy z derywatyzacją) wchłania odczynnik derywatyzyjny, uwalniając go następnie w czasie pirolizy. Dodatkową zaletą waty kwarcowej (w stosunku do stosowanych wcześniej pręcików kwarcowych) jest jej mała pojemność cieplna niewpływająca w istotny sposób na proces ogrzewania próbki. W miarę potrzeb, za pomocą mikrostrzykawki, nanoszono na próbkę 3  $\mu\text{l}$  10% wodnego roztworu TMAH. Tak przygotowaną próbkę umieszczano w pirolizerze, a następnie przeprowadzano pirolizę badanej próbki w zadanej temperaturze.

Stwierdzono, że w przypadku stosowania derywatyzyjacji za pomocą wodnego roztworu wodorotlenku tetrametyloamoniowego (TMAH) największą wydajność

tego procesu (mierzoną na podstawie względnych pól powierzchni pików pochodzących od estrów metylowych kwasów tłuszczowych) osiąga się dla próbek poddawanych pirolizie bezpośrednio po dodaniu odczynnika derywatyzyjnego (rycina 1).

Wydłużanie czasu odparowania TMAH powoduje spadek wydajności derywatyzyjacji. Zaobserwowaną zależność może tłumaczyć fakt, że TMAH nie reaguje bezpośrednio z próbką materiału polimerowego, lecz dopiero z produktami jej rozkładu termicznego. Podczas pomiarów należy również zwrócić uwagę na konieczność zastosowania przerwy w rejestracji sygnału w zakresie 1,00–1,70 min (ang. solvent delay) w celu pominięcia rozciągniętego piku pochodzącego od nadmiaru trimeptyloaminy powstającej w wyniku termicznego rozkładu TMAH.

#### 3.2. Warunki pirolizy

W pierwszej kolejności zbadano wpływ temperatury pirolizy na jakościowy i ilościowy skład otrzymywanych produktów rozkładu próbek gumy (pirolizatu). W tym celu analizowano próbki gumy przy różnych temperaturach pirolizy w przedziale 400–750°C (co 50°C) i przy czasie pirolizy równym 10 s. Dla każdej temperatury pomiar powtarzano trzykrotnie. Ponieważ zastosowany sposób przygotowania próbek nie zapewniał wystarczająco precyzyjnego pobierania próbek o stałej, a zarazem znanej masie, zdecydowano się na normalizację chromatogramów i operowanie względnymi polami powierzchni pików znormalizowanymi względem pola powierzchni piku dla wybranego związku. Pik ten powinien być obecny we wszystkich analizowanych próbkach, a jego intensywność (pole powierzchni) dostatecznie duża i łatwa do wyznaczenia (brak sąsiadujących pików mogących utrudnić pomiar pola powierzchni). W przypadku analizy próbek gumy pochodzącej z opon samochodowych nie ma możliwości wytypowania jednego związku chemicznego łączącego wszystkie powyższe cechy, zdecydowano się zatem na wstępny podział analizowanych próbek ze względu na dominujący składnik polimerowy.

W przypadku próbek kauczuku butadienowo-styrenowego (SBR) do normalizacji używano pola powierzchni piku styrenu. W przypadku próbek gumy na bazie kauczuku naturalnego normalizacji dokonywano względem pola powierzchni piku limonenu (będącego dimerem podstawowej jednostki strukturalnej kauczuku naturalnego – izoprenu). Pola powierzchni piku limonenu używano do normalizacji również wtedy, gdy badana próbka była mieszaniną kauczuku naturalnego (NR) i butadienowo-styrenowego, a pole powierzchni piku limonenu było równe lub większe od połowy pola powierzchni piku styrenu.

Na rycinie 2 przedstawiono chromatogramy próbek gumy SBR 3 po pirolizie w temperaturach 400, 550, 600

i 750°C. Ponieważ analizowano mieszanę typu SBR, przedstawione chromatogramy zostały znormalizowane względem wysokości pików styrenu (5).

Chromatogramy próbek poddanych pirolizie w temperaturze 400°C zawierały bardzo intensywny pik pochodzący od aniliny (9) oraz piki od głównych produktów rozkładu styrenowo-butadienowej mieszanki gumowej, takie jak: 4-winylocykloheksen (4), styren,  $\alpha$ -metylostyren (7) i inden (10). Zaobserwowano również pik limonenu (8) oraz słabe piki pochodzące od izocyjanobenzenu (6) i 1,3-difenylopropanu (12). Na chromatogramach próbek pirolizowanych w temperaturze 550°C zaobserwowano znaczny wzrost liczby powstających pików. Obok pików widocznych w temperaturze 400°C pojawiły się piki pochodzące m.in. od buta-1,3-dienu (1), benzenu (2), toluenu (3) oraz bifenyłu (12). W porównaniu do temperatury 400°C zmniejszyły się względne pola powierzchni pików aniliny, limonenu oraz 1,3-difenylopropanu (bez pogorszenia kształtu i stosunku sygnał/szum) na skutek wzrostu pola powierzchni pików styrenu (używanego do normalizacji). W temperaturze 600°C zaobserwowano wzrost intensywności niewielkich pików w przedziale czasów retencji 10–15 min, które odpowiadają głównie pochodnym fenyłowym będącym produktami degradacji łańcucha butadienowo-styrenowego. Piki te są mało użyteczne z punktu widzenia analizy porównawczej (są obecne w większości mieszanek gumowych), a także powodują trudności w interpretacji wyników (nakładanie pików, podniesienie poziomu linii bazowej, trudności w dokładnym wyznaczeniu pola powierzchni). Na chromatogramach próbek pirolizowanych w temperaturze 750°C zauważono wyraźny, intensywny pik pochodzący od naftalenu (11), a także znaczny wzrost intensywności pików bifenyłu oraz allilobenzenu. Pik pochodzący od allilobenzenu nakładał się na pik od aniliny (9), uniemożliwiając dokładne wyznaczenie jego pola powierzchni. Ponadto zaobserwowano wyraźny spadek względnej intensywności pików w przedziale od 10 do 13 min.

Jako najwłaściwszą temperaturę pirolizy wybrano 550°C. W tej temperaturze bowiem bezwzględna intensywność otrzymywanych pików (stosunek sygnał/szum) jest stosunkowo duża, a liczba pików przydatnych w analizie porównawczej (których intensywność zależy w dużym stopniu od badanej mieszanki) wystarczająca.

Wpływ czasu pirolizy na otrzymywane wyniki sprawdzono, prowadząc analizę serii próbek w temperaturze 550°C i czasach pirolizy równych 5, 10, 15 oraz 20 s. W badanym zakresie nie zaobserwowano wyraźnego wpływu czasu pirolizy na liczbę i rodzaj otrzymywanych związków chemicznych, a także pole powierzchni otrzymywanych pików, dlatego też w dalszych badaniach przyjęto czas 15 s jako najwłaściwszy.

### 3.3. Powtarzalność pomiarów

W celu oszacowania powtarzalności czasów retencji i względnych intensywności otrzymywanych pików wykonano analizę próbek obu rodzajów opon: SBR 1 i NR 1. Analizę każdej próbki powtórzono pięciokrotnie. Intensywności poszczególnych pików zostały znormalizowane do intensywności pików styrenu (w przypadku próbki SBR 1) i limonenu (w przypadku próbki NR 1). Wyniki pomiarów dla głównych składników (o względnej intensywności przekraczającej 3%) przedstawiono w tabeli I.

Czasy retencji wykazywały bardzo dobrą powtarzalność (w większości przypadków  $RSD < 0,7\%$ ), co świadczy o dużej stabilności procesu rozdzielania chromatograficznego (stabilne wartości ciśnień i temperatur). Natomiast stwierdzono występowanie dużych różnic w intensywności (polach powierzchni) pików pochodzących od poszczególnych składników badanych mieszanek (w przypadku niektórych związków wartość  $RSD$  przekraczał poziom 30%). Prawdopodobnymi przyczynami obserwowanego problemu może być nie tylko trudność zachowania jednakowej masy analizowanych próbek, ale również trudność zachowania jednakowego położenia próbki wewnątrz pirolizera. Zauważono bowiem, że istnieje możliwość przemieszczenia próbki w pirolizerze względem jej pierwotnego położenia, czego konsekwencją staje się zmiana temperatury, jakiej próbka jest poddawana. Innymi źródłami błędów mogły być: niejednorodność badanego materiału wynikająca z technologii produkcji oraz niezadawalająca powtarzalność temperatury pirolizy (uwarunkowana konstrukcyjnie).

### 3.4. Wyniki analizy porównawczej

Podjęto próbę wstępnej wizualnej oceny różnic w składzie chemicznym badanych próbek. Analizie poddano (w jednakowych, optymalnych warunkach) próbki dwóch opon letnich (SBR 1, SBR 2) i dwóch opon zimowych (NR 1, NR 2). Na rycinie 3 przedstawiono wyniki otrzymane dla próbek SBR 1, SBR 2 oraz NR 1 bez zastosowania procesu derywatywacji.

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że pikami specyficznymi dla opon wyprodukowanych na bazie kauczuku butadienowo-styrenowego są piki pochodzące od buta-1,3-dienu (1) i styrenu (6), a dla opon na bazie kauczuku naturalnego – piki izoprenu (2) i limonenu (7). Inne piki pochodzące od benzenu (2), toluenu (3), 4-winylocykloheksenu (5) są widoczne z różną intensywnością na chromatogramach obu rodzajów opon.

Rozróżnienie opon należących do różnych grup (wyprodukowanych na bazie różnych polimerów) nie następuje większych problemów z uwagi na obecność intensywnych pików pochodzących od głównych składników



mieszanin, a pojawiających się zawsze na chromatogramach próbek. Natomiast rozróżnienie opon należących do tej samej grupy (wyprodukowanych na bazie tego samego głównego polimeru – SBR i (lub) NR) jest zadaniem dużo bardziej kłopotliwym, gdyż różnice w składzie chemicznym wynikają jedynie z obecności małych ilości substancji dodawanych w trakcie produkcji (dodatków uszlachetniających wyrób) oraz z możliwych różnic w mikrostrukturach badanych mieszanek gumowych. Z punktu widzenia analizy porównawczej w przypadku opon należących do tej samej grupy najistotniejsze są (z reguły mało intensywne) piki pochodzące od takich związków, jak  $\alpha$ -metylostyren (8) i anilina (9), których intensywność jest silnie uzależniona od rodzaju analizowanej próbki. Piki te wyraźnie ujawniły się na wszystkich chromatogramach próbek pochodzących z opony SBR 2, natomiast na chromatogramach próbek opony SBR 1 były praktycznie niewidoczne. Próbkę opon NR 1 oraz NR 2 nie wykazywały istotnych różnic pozwalających na ich rozróżnienie (drobne różnice pomiędzy chromatogramami próbek NR 1 oraz NR 2 były zbliżone do różnic pomiędzy chromatogramami dwóch próbek NR 1), dlatego też, w celu poprawy możliwości rozróżniania próbek gumy, zastosowano derywatyzację z wykorzystaniem wodnego roztworu wodorotlenku tetrametyloamoniowego (TMAH). Chromatogramy otrzymane dla próbek SBR 1, NR 1 i NR 2 po zastosowaniu derywatyacji przedstawiono na rycinie 4.

Po derywatyacji chromatogramy otrzymane dla opon letnich i zimowych w zakresie czasów retencji od 1 do 19 min były zasadniczo takie same, jak bez zastosowania tego procesu. Na chromatogramach próbki SBR 1 ujawniły się jednak wyraźne piki pochodzące od palmitynianu metylu (2) i stearynianu metylu (3). Widoczny jest również bardzo słaby pik metylotiobenzotiazolu (1). Na chromatogramach próbki NR 1 widać jedynie słaby pik palmitynianu metylu (2), nie widać jednak piku pochodzącego od stearynianu metylu, natomiast na chromatogramach próbki pochodzącej z opony zimowej (NR 2) widoczne są wyraźne piki pochodzące zarówno od palmitynianu metylu (2), jak i stearynianu metylu (3), a także mało intensywny pik odpowiadający obecności metylotiobenzotiazolu (1).

Wyniki otrzymane po derywatyacji wskazują zatem na możliwość rozróżnienia od siebie zarówno próbek opon obu rodzajów (letnich i zimowych), jak również różnych próbek opon danego rodzaju (letnich lub zimowych), trudnych do rozróżnienia bez zastosowania derywatyacji.

#### 4. Wnioski

Opracowano procedurę analizy gumy metodą chromatografii gazowej z zastosowaniem pirolizera z pla-

tynowym włóknem grzejnym sprzężonego z zestawem GC/MS. Dokonano doboru i weryfikacji parametrów pirolizy najbardziej odpowiednich do kryminalistycznej analizy identyfikacyjnej i porównawczej próbek gumy. Zastosowanie spektrometru mas w charakterze detektora niesie za sobą szereg korzyści. Najważniejszą z nich jest znaczny wzrost liczby informacji otrzymywanych w toku analizy, a ułatwiających interpretację otrzymanych wyników (możliwość bezpośredniego podglądu widma masowego pików) nawet w przypadku zmian w czasach retencji (spowodowanych np. zmianą długości kolumny). Możliwość obserwacji widma masowego jest również bardzo użyteczna w przypadku istotnych pików o zbliżonych czasach retencji (np.  $\alpha$ -metylostyren i limonen), pozwalając na ich trafne przyporządkowanie. Zastosowanie spektrometrii mas umożliwia również wygenerowanie chromatogramu dla wybranej wartości  $m/z$ , co znacznie ułatwia wyszukiwanie pików związków o charakterystycznych widmach masowych (np. anilina,  $m/z = 66$ , benzotiazol,  $m/z = 135$ , bifenyl,  $m/z = 154$ ).

Na podstawie analizy uzyskanych chromatogramów stwierdzono bardzo dobrą powtarzalność czasów retencji poszczególnych składników, co pozwala na identyfikację produktów pirolizy nie tylko na podstawie ich widm masowych, lecz także ich czasów retencji. Metoda Py-GC/MS może być zatem stosowana do analizy jakościowej obejmującej zarówno badania identyfikacyjne (identyfikację grupową gumy polegającą na określeniu głównych składników mieszanki gumowej), jak i porównawcze. Stwierdzono też dość słabą powtarzalność (w niektórych przypadkach  $RSD > 30\%$ ) względnych intensywności pików chromatograficznych, co ogranicza zastosowanie metody w analizie ilościowej. Podczas interpretacji otrzymanych wyników należy zawsze zwracać szczególną uwagę na zmienność intensywności interesujących pików w obrębie każdej z porównywanych próbek (zmienność wewnątrzobiektywna), a następnie dokonać porównania intensywności pomiędzy badanymi próbkami.

Dodatkowe wykorzystanie techniki derywatyacji pozwala na rejestrację pików pochodzących od wyższych kwasów tłuszczowych (w postaci ich estrów metylowych), a także piku metylotiobenzotiazolu, tj. dodatków uszlachetniających obecnych w mieszance gumowej. Intensywność tych pików zależy od rodzaju analizowanej próbki i stanowi dodatkową informację o jej składzie. Ustalono, że stosowany do derywatyacji roztwór TMAH należy dodawać bezpośrednio przed pirolizą (piroliza „na mokro”). Główną zaletą metody derywatyacji jest łatwość i szybkość przygotowania próbek do badań bez konieczności użycia dodatkowego wyposażenia laboratoryjnego.

Całkowity czas analizy wynosi około 45 min (wraz z powrotem układu GC/MS do stanu początkowego). W związku z tym możliwe jest względnie szybkie przeprowadzenie pirolizy kilku badanych próbek gumy

w ciągu jednego dnia pracy z przynajmniej trzykrotnym powtórzeniem analizy każdej badanej próbki.

Wykonane badania udowodniły, że opracowana procedura spełnia podstawowe kryteria dotyczące analiz kryminalistycznych, takie jak: niewielka masa próbki (60 µg), możliwość otrzymania wiarygodnych wyników jakościowych oraz stosunkowo krótki czas analizy, może więc być zastosowana zarówno do analizy identyfikacyjnej (identyfikacja grupowa), jak i porównawczej próbek gumy. Metoda Py-GC/MS, dając informacje o wielu składnikach analizowanego materiału, stwarza możliwość rozróżnienia próbek o bardzo podobnej budowie chemicznej. Możliwości takich nie daje żadna inna metoda stosowana dotychczas rutynowo w kryminalistycznej analizie śladów materiałów polimerowych.