

Ćwiczenie 4.

ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII TLC ORAZ SPEKTROFOTOMETRII UV-Vis DO OZNACZANIA TUSZU

WPROWADZENIE:

Proponowanymi w ćwiczeniu metodami można dokonać analizy tuszu pochodzącego z długopisów, pisaków, pieczętek oraz tonerów komputerowych. Obecnie produkowane tusze stanowią kombinację wielu barwników. Zatem, w celu określenia pochodzenia próbki dokumentu można przeprowadzić analizę składu użytego tuszu zarówno pod kątem jakościowym jak i ilościowym. Biorąc pod uwagę, jak na przestrzeni lat zmieniał się skład jakościowy mieszanek tuszowych można także dokonać datowania próbki. Wykorzystywane w ćwiczeniu metody należą do technik destrukcyjnych, jednakże tylko niewielki fragment dokumentu jest wystarczającym materiałem do przeprowadzenia analizy. Obecnie, najczęściej wykorzystywanymi metodami do analizy tuszy, stosowanymi w laboratoriach kryminalistycznych są spektrofotometria w zakresie światła UV, chromatografia gazowa (GC), wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC), a także chromatografia cienkowarstwowa (TLC).

CEL ĆWICZENIA:

Celem ćwiczenia jest analiza jakościowa składu dowolnego tuszu użytego do sporządzenia notatki. Identyfikacja tuszu zostanie przeprowadzona za pomocą chromatografii cienkowarstwowej TLC oraz spektrofotometrii UV-Vis.

ODCZYNNIKI I APARATURA

1. próbka dokumentu
2. 4-5 fiolek ok. 5 ml
4. płytki TLC- żel krzemionkowy
5. pipetki Pasteur'a
6. komora chromatograficzna (zlewka 150 ml ze szkiełkiem zegarkowym)
7. szklane kapilary
8. lampa UV
9. spektrofotometr UV-Vis
10. metanol
11. octan etylu
12. kwas octowy
13. n-propanol
14. woda destylowana

OPIS WYKONANIA ĆWICZENIA

Przygotowanie próbek:

1. Próbkę badanego dokumentu pociąć na małe kawałki i umieścić w fiolce o poj. ok. 5 ml. Do fiolki dodać ok. 2.5 ml metanolu i przeprowadzić ekstrakcję barwników pozostawiając próbkę zanurzoną w metanolu na kilka minut.

2. Przygotować metanolowe ekstrakty tuszu z dowolnych długopisów, pisaków itp. W tym celu przygotować kawałki papieru zapisane wybranymi długopisami, pociąć na małe kawałki i podobnie, jak w przypadku analizowanego fragmentu dokumentu, próbki poddać ekstrakcji.

Rozwinięcie chromatogramu TLC:

Przygotować dwa układy fazy ruchomej o następującym składzie:

A. octan etylu : etanol : woda zmieszane w stosunku objętościowym 7:3:3.

B. octan etylu: propanol : woda : kwas octowy zmieszane w stosunku objętościowym 3:2.5:1:1

Przygotować zestaw do chromatografii TLC. Do zlewki o pojemności 150 ml wprowadzić niewielką ilość fazy ruchomej **A.** (ok. 3 mm powyżej dna). Zlewkę przykryć szkiełkiem zegarkowym i pozostawić na kilka minut. Przygotować płytkę chromatograficzną o wymiarach 3 cm × 8 cm, uważając aby nie uszkodzić naniesionej na płytkę warstwy SiO₂. Delikatnie, za pomocą ołówka, zaznaczyć linię startu, ok. 5 mm powyżej dolnej krawędzi płytki. Na płytkę, na linię startu nanieść za pomocą kapilary ekstrakt z fragmentu badanego dokumentu, oraz w odległościach nie mniejszych niż 0.5 cm ekstrakty odniesienia. Płytkę umieścić w komorze chromatograficznej. Po rozwinięciu chromatogramu wyjąć płytkę, wysuszyć i obejrzeć w świetle dziennym oraz pod lampą UV. Obliczyć wartości R_f poszczególnych składników danego tuszu. Wyniki odczytu zapisać w Tabeli 1.

W ten sam sposób przeprowadzić analizę chromatograficzną TLC próbek tuszu stosując układ fazy ruchomej **B.**

Tabela 1

	Tusz 1		Tusz 2		Tusz 3		Tusz 4		Tusz X	
	R _f	Kolor plamki	R _f	Kolor plamki	R _f	Kolor plamki	R _f	Kolor plamki	R _f	Kolor plamki
Faza ruchoma A										
Faza ruchoma B										

Analiza metodą spektrofotometryczną:

Przeprowadzić kalibrację aparatu używając do tego celu metanol.

Przygotowane wcześniej ekstrakty metanolowe indywidualnie przenieść do kuwety pomiarowej rozcieńczając tak, aby pasmo o największej intensywności charakteryzowało się wartością absorbancji nie większą niż A=1. Zarejestrować widma absorpcji poszczególnych próbek w zakresie od 200 do 800 nm. Odczytać wartości odpowiadające maksymalnej absorpcji i umieścić je w Tabeli 2.

Tabela 2

	λ^1_{\max}	λ^2_{\max}	λ^3_{\max}
Tusz 1			
Tusz 2			
Tusz 3			
Tusz X			

Opracowanie wyników:

1. Porównać uzyskane chromatogramy TLC
2. Dokonać oceny skuteczności rozdzielenia składników tuszu przy zastosowaniu fazy ruchomej **A i B**
2. Obliczyć wartości R_f widocznych na chromatogramach TLC substancji
3. Zinterpretować wyniki uzyskane techniką TLC
4. Porównać widma absorpcyjne UV-Vis wszystkich próbek tuszów
5. Zinterpretować wyniki otrzymane techniką UV-Vis.
6. Na podstawie badań TLC oraz UV-Vis zidentyfikować długopis użyty do stworzenia badanego dokumentu.
7. Porównać użyteczność i skuteczność zastosowanych w ćwiczeniu metod.

MATERIAŁ DO OPANOWANIA

1. Chromatografia cienkowarstwowa
2. Spektrofotometria UV-Vis