



IN MARI VIA ETIA  
UNIwersytet Gdański  
Wydział Chemii

Pracownia studencka  
**Katedry Analizy Środowiska**

**Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych**

**Ćwiczenie nr 2**

**Analiza tuszu metodą chromatografii  
cienkowarstwowej**

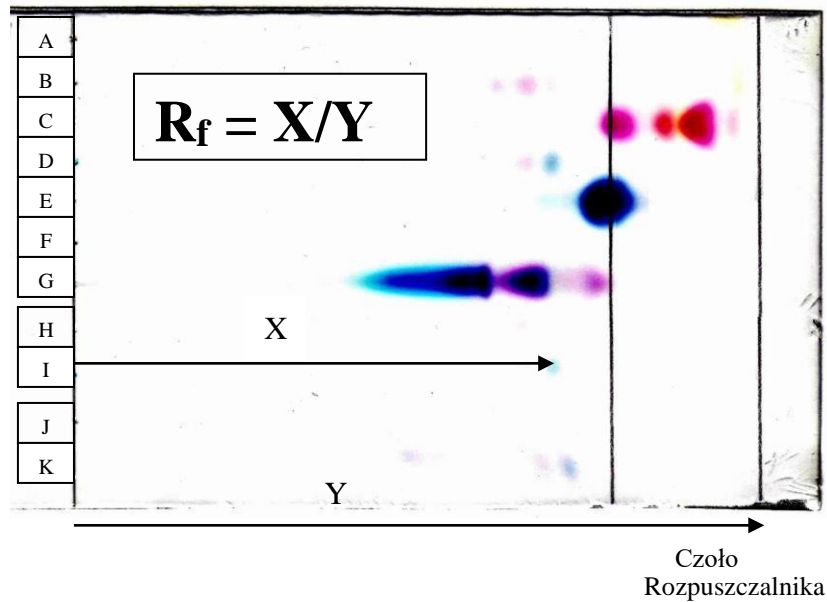
Gdańsk, 2021

## **I Cel ćwiczenia**

Celem ćwiczenia jest analiza jakościowa tuszu użytego do napisania przykładowego dokumentu. Podczas ćwiczenia zostanie wykorzystana technika chromatografii cienkowsarstwowej oraz spektrofotometria UV/Vis.

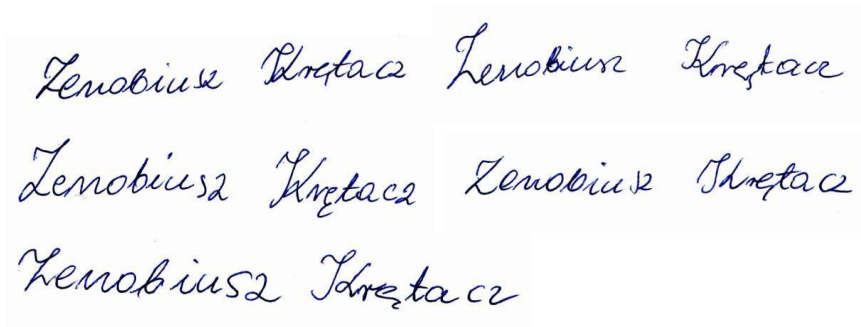
## **II Analiza dokumentów**

Analiza tuszu jest wykonywana w laboratoriach kryminalistycznych w celu potwierdzenia lub wykluczenia autentyczności dokumentu. Wykonuje się analizy tuszu z drukarek, długopisów, pisaków czy pieczętek. Fałszerstwa dotyczą min. takich dokumentów, jak paszporty, testamenty, pełnomocnictwa, czek, świadectwa urodzenia, akty ślubu itd. Kiedyś tusz posiadał tylko jeden barwnik i potwierdzenie jego obecności było dowodem. W miarę upływu czasu producenci zaczęli wytwarzać tusze, których skład to kombinacja wielu barwników. Testom podlega skład chemiczny zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. Badania te służą identyfikacji miejsca pochodzenia tuszu oraz badania jego wieku. Do roku 1950 kryminalistyka nie mogła wykorzystywać wielu technik pomiarowych. W sądzie niemiłe były widziane techniki powodujące destrukcję nawet niewielkiego fragmentu dokumentu będącego materiałem dowodowym. Dopuszczono było fotografowanie dokumentu, obserwacja pod wpływem promieniowania widzialnego, podczerwieni i ultrafioletu, czasami testy na obecność metali (miedzi, chromu). Niestety uzyskane informacje często nie były dowodami wystarczającymi do skazania lub uniewinnienia podejrzanego. We wczesnych latach 50-tych dopuszczono wykorzystanie technik destrukcyjnych zaczynając od chromatografii bibułowej. W roku 1966 Tholl po raz pierwszy sięgnął po chromatografię cienkowsarstwową i nie trzeba było długo czekać by w jego ślady poszli inni naukowcy. Obecnie w laboratoriach kryminalistycznych do analizy tuszu najczęściej wykorzystuje się spektrofotometrię w zakresie widzialnym oraz UV, promieniowanie rentgenowskie, chromatografię gazową, HPLC, techniki elektroforetyczne oraz chromatografię cienkowsarstwową (TLC) (Rys. 1).



Rys. 1. Przykładowy chromatogram TLC 11 próbek tuszu

Analiza kryminalistyczna dokumentów obejmuje analizę tuszu, papieru, druku lub pisma. Analiza pisma to badanie tuszu oraz ekspertyza grafologiczna (rozmiar liter, nachylenie w prawo lub w lewo, kąt nachylenia, wygląd linii bazowej tekstu, itp.).



Do analizy tuszu można wykorzystać:



Oprócz klasycznej metody TLC, bardzo cenne jest także wykorzystanie techniki łączonej TLC-MS (połączenie chromatografii cienkowarstwowej ze spektrometrią mas).

Dzięki takiemu połączeniu możliwa jest precyzyjna analiza jakościowa, gdyż oprócz współczynnika opóźnienia, który może być identyczny dla różnych substancji, otrzymujemy również widmo mas, które jednoznacznie pozwoli zidentyfikować dane substancje.

### III WYKONANIE ĆWICZENIA

Należy sporządzić układ fazy ruchomej o następującym składzie:

I. octan etylu: propanol : woda : kwas octowy ( 30 : 25 : 10 : 1).

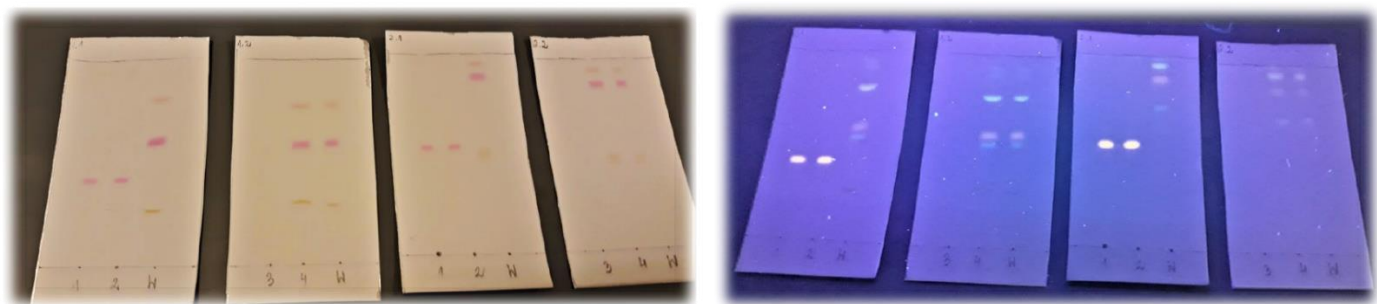
Do komór chromatograficznych wprowadzić niewielką ilość fazy ruchomej (ok. 3 mm od dna), zamknąć komory i kondycjonować przez kilka minut. Przygotować płytki chromatograficzne o wymiarach 4,2 x 8 cm, na których zaznaczyć ołówkiem linię startu.

Próbkę dokumentu pociąć na małe kawałki i umieścić w zagłębieniu płytki ceramicznej a następnie ekstrahować barwniki za pomocą metanolu (Rys. 2).



Rys. 2. Metanolowe ekstrakty z tuszów w płytce ceramicznej

Na trzy płytki nanieść ekstrakt z fragmentu dokumentu oraz próbki kilku długopisów, a następnie umieścić je w komorach chromatograficznych z fazami ruchomymi. Po rozwinięciu chromatogramu wyjąć płytkę, wysuszyć i obejrzeć w świetle dziennym oraz pod lampą UV.



Rys. 3. Detekcja płytek TLC w świetle widzialnym i pod lampą UV

Obliczyć wartości  $R_f$  poszczególnych składników danego tuszu i wraz z zaobserwowaną dla nich barwą wpisać do tabelki.

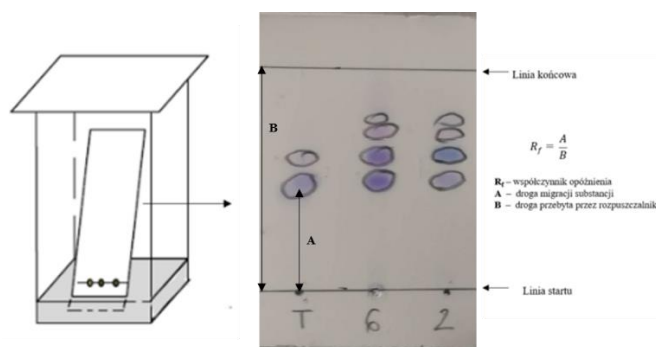
Tabela 1 Zestawienie wartości wyznaczonych współczynników opóźnienia.

TUSZ 1	TUSZ 2	TUSZ 3	TUSZ n
Kolor/wartość $R_f$	Kolor/wartość $R_f$	Kolor/wartość $R_f$	Kolor/wartość $R_f$
Zielony/ $R_{f_1} = 0,7$			
Żółty/ $R_{f_2} = 0,8$			

Napisać krótki tekst za pomocą każdego z długopisów, którego tusz był analizowany metodą TLC. Przygotować metanolewe ekstrakty fragmentów dokumentów. W tym celu próbkę dokumentu pociąć na małe kawałki i umieścić w próbówce, a następnie ekstrahować barwniki za pomocą metanolu. Każdy z ekstraktów umieścić kolejno w kuwecie pomiarowej i za pomocą spektrofotometru UV/Vis zmierzyć widmo absorpcyjne w zakresie 200 – 800 nm.

#### IV Opracowanie wyników

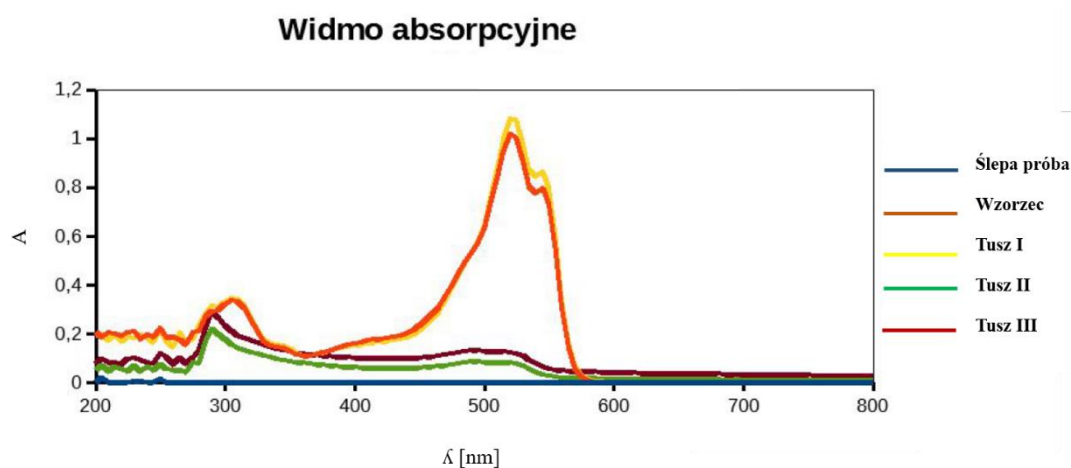
- przedstawić opis wykonanych ćwiczeń w postaci schematu blokowego wraz z uzyskanymi wynikami, zestawionymi w tabelach.
- opisać warunki przeprowadzonych analiz chromatograficznych;
- obliczyć wartości  $R_f$  widocznych na chromatogramach substancji (Rys. 4);



Rys. 4. Komora chromatograficzna z zanurzoną płytką i chromatogram TLC z barwnikami z tuszów.

- załączyć chromatogramy TLC próbki tuszu wyizolowanego z dokumentu (materiał dowodowy) oraz próbek tuszu pochodzącego z różnych długopisów wraz z obliczonymi wartościami  $R_f$ ;
- zinterpretować otrzymane wyniki (zidentyfikować długopis wykorzystany do napisania użytego do badań dokumentu);

- wykreślić widma adsorpcyjne (Rys. 5., zależność absorbancji od długości fali) identyfikowanych próbek (przykład poniżej). Dokonać identyfikacji tuszu na podstawie maksimum absorpcji ( $\lambda_{\max}$ ) (Tabela 2).



Rys. 5. Widmo absorpcyjne identyfikowanych próbek

Tabela 2 Zestawienie wartości maksimum absorpcji.

Probka	Wzorzec	Tusz I	Tusz II	Tusz III
$\lambda_{\max}$ [nm]	305 nm	305 nm	290 nm	290 nm
	520 nm	520 nm		

- przedstawić dyskusję wyników, wnioski, w tym opisać przydatność danych technik w tego typu badaniach.

## SPRZĘT I SZKŁO LABORATORYJNE

- płytki ceramiczne z wgłębieniami
- płytki do TLC - żel krzemionkowy Silica Gel 60 (Merck)
- komory chromatograficzne
- ołówek - linijka
- nożyczki
- szklane kapilary
- pipetki Pasteur'a
- lampa UV
- probówki szklane – 6 sztuk

- butla na zlewki po tuszu
- butelka zakręcana 25 ml
- pipety miarowe: 1 ml (1 szt), 2 ml (2 szt), 5 ml (2 szt)

## **ODCZYNNIKI**

- metanol
- etanol
- octan etylu
- n-propanol
- kwas octowy
- woda destylowana

## **6. Literatura**

1. F.A. Morsy; S.E. EI-shebiny; M. Awadalla, *Forensic Science Journal*, 2005, 4, 1-13.
2. Vogt, C.; Becker, A.; Vogt, J. "Investigation of Ball Point Pen Inks by Capillary Electrophoresis (CE) with UV/Vis Absorbance and Laser Induced Fluorescence Detection and Particle Induced X-Ray Emission (PIXE)" *J. Forensic Sci.* 1999, 44, 819-831.
3. <http://www.reachoutmichigan.org/funexperiments/quick/csustan/mrsketch.htm>
4. [www.isisvan.org/v2/includes/download.php?file=chromat/tlc/InkviaPaper.doc](http://www.isisvan.org/v2/includes/download.php?file=chromat/tlc/InkviaPaper.doc)
5. <http://www.camag.com/v/products/tlc-ms/>