



中华人民共和国国家标准

GB/T 19267.2—2008
代替 GB/T 19267.2—2003

刑事技术微量物证的理化检验 第2部分：紫外-可见吸收光谱法

Physical and chemical examination of trace evidence in forensic sciences—
Part 2: Ultraviolet-visible absorption spectroscopy

www.docin.com

2008-08-14 发布

2009-03-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

中华人民共和国
国家标准
刑事技术微量物证的理化检验
第2部分：紫外-可见吸收光谱法
GB/T 19267.2—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码：100045

网址 www.spc.net.cn

电话：68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 17 千字
2008年12月第一版 2008年12月第一次印刷

*

书号：155066·1-34849 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话：(010)68533533

前 言

GB/T 19267《刑事技术微量物证的理化检验》分为 12 个部分：

- 第 1 部分：红外吸收光谱法；
- 第 2 部分：紫外-可见吸收光谱法；
- 第 3 部分：分子荧光光谱法；
- 第 4 部分：原子发射光谱法；
- 第 5 部分：原子吸收光谱法；
- 第 6 部分：扫描电子显微镜/X 射线能谱法；
- 第 7 部分：气相色谱-质谱法；
- 第 8 部分：显微分光光度法；
- 第 9 部分：薄层色谱法；
- 第 10 部分：气相色谱法；
- 第 11 部分：高效液相色谱法；
- 第 12 部分：热分析法。

本部分为 GB/T 19267 的第 2 部分。

本部分代替 GB/T 19267.2—2003《刑事技术微量物证的理化检验 第 2 部分：紫外-可见吸收光谱法》。

本部分与 GB/T 19267.2—2003 相比主要变化有：

- 补充了术语和定义的内容(本部分的 3.8、3.9、3.14~3.16)；
- 增加了检测器种类(本部分的 5.3.4)；
- 增加了“控制系统”和“数据处理系统”的内容(本部分的 5.3.5、5.3.6)；
- 删除了“记录仪”的内容(GB/T 19267.2—2003 的 5.2.5)；
- 对实验条件设定进行了修改和补充(本部分的 5.5.2、5.5.4)；
- 修改和补充了定量分析的内容(本部分的 7.3.1、7.3.5~7.3.7；GB/T 19267.2—2003 的 7.3.3.1~7.3.3.5)；
- 增加了结论的表述内容(本部分的 8.2)。

本部分由中华人民共和国公安部提出。

本部分由全国刑事技术标准化技术委员会理化检验标准化分技术委员会(SAC/TC 179/SC 4)归口。

本部分起草单位：湖北省武汉市公安局刑事侦查局。

本部分主要起草人：张红旗、李娟。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 19267.2—2003。

刑事技术微量物证的理化检验

第2部分：紫外-可见吸收光谱法

1 范围

GB/T 19267 的本部分规定了紫外-可见吸收光谱法的检验方法。

本部分适用于刑事技术领域微量物证的理化检验，其他领域亦可参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 19267 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB/T 13966 分析仪器术语

3 术语和定义

GB/T 13966 中确立的以及下列术语和定义适用于本部分。

3.1

紫外-可见吸收光谱 ultraviolet & visible absorption spectra (UV-Vis)

用波长(波数)和吸光度描绘物质在紫外或可见区域(200 nm~700 nm)所得的吸收曲线。

3.2

紫外-可见吸收光谱法 UV-Vis absorption spectroscopy

研究物质分子对紫外和可见区波长的光的相互作用，利用吸收谱带的波长位置的吸光度进行试样的定性、定量分析方法。

3.3

导数光谱 derivative spectrum

又称微分光谱。无论是分子的吸收光谱、发射光谱及激发光谱均可表示成波长的函数 $I=f(\lambda)$ ，它的导函数的图象就是导数光谱，有一阶、二阶、三阶等各阶导数光谱。

3.4

吸收带 absorption band

紫外和可见光区域跃迁类型相同的吸收峰称吸收带，可分为 R 带、K 带、B 带和 E 带。

3.5

肩峰 shoulder peak

在吸收峰旁产生的一个曲折，用 Sh 表示。

3.6

红移 red shift

亦称长移，由于化合物的局部结构修饰或者使用的溶剂变更时紫外和可见吸收峰向长波长方向移动。

3.7

蓝(紫)移 blue shift

亦称短移，由于化合物的局部结构修饰或者使用的溶剂变更时紫外和可见吸收峰向短波长方向移动。

3.8

生色团 chromophore

分子中产生吸收带的主要官能团,生色团为不饱和基团。

3.9

助色团 auxochrome

本身在紫外区和可见区不显示吸收的原子或基团,当连接一个生色团后,使生色团的吸收带向红移并使吸收强度增加。

3.10

溶剂效应 solvent effect

溶剂对光谱吸收峰的波长、吸收强度的影响。

3.11

强带和弱带 strong band and weak band

化合物的紫外-可见吸收光谱中,凡摩尔吸光系数 ϵ_{\max} 值大于 10^4 的吸收峰为强带;凡 ϵ_{\max} 小于 10^3 的吸收峰为弱带。

3.12

摩尔吸光系数 mol absorptivity

厚度以厘米表示,浓度以摩尔/升表示的吸光系数,单位为 $L/(cm \cdot mol)$ 。

3.13

质量吸光系数 mass absorptivity

厚度以厘米表示,浓度以克/升表示的吸光系数,单位为 $L/(cm \cdot g)$ 。

3.14

吸光度 absorbance

光线通过溶液或某一物质前的人射光强度与该光线通过溶液或物质后的透射光强度比值的对数。

3.15

透过率 transmittance

物质的光入通量与由被照面或介质入射面之另外一面离开的量之间的比值。

3.16

朗伯-比尔定律 Lambert-Beer

当光程长度和摩尔吸收系数一定时,吸光度 A 与溶液中待测组分浓度成正比。利用此定律可进行定量分析,计算公式如下:

$$A = \lg(1/T) = \epsilon bc$$

式中:

A ——溶液的吸光度;

T ——溶液的透过率;

b ——溶液厚度,单位为厘米(cm);

c ——溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

ϵ ——摩尔吸光系数,单位为升每摩尔厘米[$L/(cm \cdot mol)$]。

4 原理

化合物分子的外层电子或价电子吸收一定的能量从低能量级向高能量级跃迁,所吸收的能量对应一定的波长,当吸收能量波长处于 200 nm~760 nm 时,就产生紫外-可见吸收光谱。由于分子中价电子的能级不同,跃迁所需能量不同,即吸收峰波长不同。每摩尔分子中,透光率不同,跃迁的电子数目不同则导致吸收光强度不同。因而产生不同的吸收曲线,即 UV-Vis 吸收光谱,从而可用该光谱进行定性、定量及结构分析。

5 仪器

5.1 仪器名称

紫外-可见分光光度计。

5.2 仪器类型

单光束、双光束或双波长紫外-可见分光光度计。

5.3 仪器组成

5.3.1 光源

常用碘钨灯和氢灯(或氘灯)。

5.3.2 单色器

是一种能把复合光分解为单色光并能从中选出所需要波长的装置。棱镜或衍射光栅是单色器的主要部件,通常单色器还含狭缝和透镜系统。

5.3.3 吸收池

按材料分为两类:适用于紫外和可见光区的石英吸收池和只适用于可见光区的玻璃吸收池。

5.3.4 检测器

接受光信号,并将其转变为电信号的装置,目前应用较多的是光电倍增管、二极管阵列检测器。

5.3.5 控制系统

电子计算机及软件系统控制仪器各部件按设定的参数运行。

5.3.6 数据处理系统

电子计算机及软件系统对仪器运行获得的数据进行处理,得出吸收光谱图及定性、定量分析结果等。还包括记录仪、打印机等。

5.4 仪器校正

5.4.1 吸收池的校正

5.4.1.1 匹配吸收池的选用

在吸收池 A 中装入试样溶液,在吸收池 B 内装入参比溶液,测量试液的吸光度。然后再在吸收池 A 内装入参比溶液,在吸收池 B 内装入试样溶液,测量吸光度。前后两次测得的吸光度差值小于 1%, A、B 两吸收池才可以配对使用。

5.4.1.2 校正值的使用

取四个吸收池,先将它们编号记为 0[#]、1[#]、2[#]、3[#],并确定以 0[#]号池为标准,选用一已知 λ_{\max} 物质的溶液,在其最大吸收波长下分别用这四个吸收池测定该溶液吸光度为 A_0 、 A_1 、 A_2 、 A_3 。1[#]、2[#]、3[#] 池的校正系数 β_1 、 β_2 、 β_3 分别等于 A_0/A_1 、 A_0/A_2 、 A_0/A_3 。计算时以 0[#]池为参比溶液,将所得值乘以该吸收池的校正系数即可。

5.4.1.3 使用吸收池的注意事项

使用吸收池应注意以下几点:

- 拿取吸收池时,手指不能接触光学面;
- 光学面不能与硬物接触,只能用镜头纸擦拭吸收池的光学面;
- 不得在火源或电炉上加热或烘烤吸收池;
- 在吸收池中不能长时间存放有腐蚀性的物质;
- 吸收池在使用后应立即用水冲洗干净,必要时可使用盐酸(1:1)浸泡,或用 $K_2Cr_2O_7$ 洗液浸 2 min~3 min,并立即用水冲洗干净。

5.4.2 波长校正

5.4.2.1 要求

波长的绝对误差小于或等于 0.5 nm。

5.4.2.2 校正方法

5.4.2.2.1 根据苯蒸气在紫外区的特征吸收峰进行波长校正

在吸收池内滴一滴苯,盖上吸收池盖,待苯蒸气充满整个吸收池后,以空气为参比,绘制它的吸收光谱,在测定的苯蒸气吸收光谱上找出5个峰,并与标准值236.4 nm、241.6 nm、247.1 nm、252.9 nm、258.9 nm比较,以此对仪器波长进行校正。

5.4.2.2.2 根据稀土玻璃(如锆铷玻璃、钛玻璃)特征吸收峰进行校正

在可见区校正波长的最简便方法是绘制锆铷玻璃的吸收光谱。

5.4.2.2.3 根据某些元素辐射产生的强谱线也可用于检查和校正波长

如汞灯的546.1 nm是强绿色谱线,钾的776.5 nm,铷的780.0 nm以及铯的852.1 nm等。

5.4.3 吸光度的校正

使用硫酸铜、硫酸钴铵、铬酸钾等物质的标准溶液,检查或校正UV-Vis分光光度计的吸光度标度。其中以铬酸钾溶液应用最普遍。在25℃左右,把0.040 0 g铬酸钾溶于1 L的0.05 mol/L KOH溶液中,用0.05 mol/L KOH作为等比溶液,用1 cm厚的吸收池测定铬酸钾溶液在不同波长下的吸光度,结果与表1中数值进行比较。吸光度的重现性应小于或等于0.5%。

表1 铬酸钾溶液的吸光度

波长/nm	吸光度	波长/nm	吸光度	波长/nm	吸光度	波长/nm	吸光度
220	0.455 9	300	0.151 8	380	0.928 1	460	0.017 3
230	0.167 5	310	0.045 8	390	0.684 1	470	0.008 3
240	0.293 3	320	0.062 0	400	0.387 2	480	0.003 5
250	0.496 2	330	0.145 7	410	0.197 2	490	0.000 9
260	0.634 5	340	0.314 3	420	0.126 1	500	0.000 0
270	0.744 7	350	0.552 8	430	0.084 1		
280	0.723 5	360	0.829 7	440	0.053 5		
290	0.429 5	370	0.991 4	450	0.032 5		

5.5 实验条件的设定

5.5.1 波长范围和测量波长的设定

实验的波长范围应根据待测物质吸收情况确定。进行定量分析时,应选择最大吸收波长(λ_{\max})为测量波长,当最大吸收峰受到共存杂质干扰或某种原因使测量波长难以重复时,应选用灵敏度稍低的不受干扰的其他吸收峰。在多种组分存在,且彼此的吸收峰互有重叠的情况下,则需建立多元联立方程求解。

5.5.2 狭缝宽度的设定

应设定为不减少吸光度和不影响分辨率时的最大狭缝宽度。通常狭缝宽度为:气体试样0.05 nm~0.25 nm;液体或固体试样0.25 nm~2 nm;高吸收试样2 nm~5 nm;固定波长测定1 nm~2 nm。

5.5.3 吸光度范围的设定

应通过调节溶液浓度等使吸光度读数在0.15~1.00范围内,以保证分析结果的可靠。当吸光度读数落在0.27~0.64范围时,测量的相对误差更小。

5.5.4 扫描速度的设定

扫描速度的选择取决于试样性质、谱带宽度和响应时间。对于锐的吸收光谱,应选用慢扫描速度;对宽的吸收光谱,采用较快的扫描速度。

5.6 试剂

氢氧化钠、硫酸铜、铬酸钾、苯、乙醇、四氯化碳、氯仿、正己烷、乙酸乙酯、丙酮,以上试剂均为分析纯。

6 样品制备

6.1 溶液的配制要求

测定吸收光谱,必须使用透明溶液,应选择合适的溶剂溶解各种试样形成真溶液。选择溶剂的原则是:

- a) 溶剂必须不与被测组分发生化学反应;
- b) 对试样有良好的溶解能力;
- c) 在测定波长范围内,溶剂本身无吸收;
- d) 被测组分在溶剂中具有良好的吸收峰形。

紫外区常用溶剂及其吸收波长见表2。有些溶剂(如甲醇、乙醇、正己烷等)如不作专门的处理,达不到表中注明的波长值。

表2 紫外区常用溶剂及其吸收波长

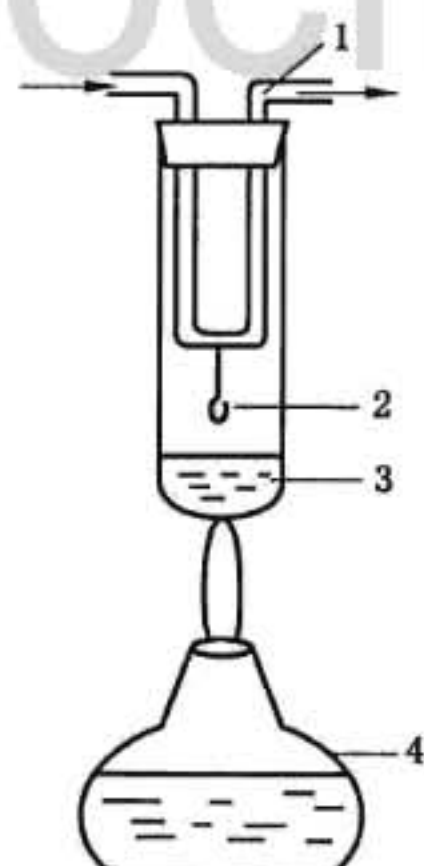
溶剂	波长/nm	溶剂	波长/nm	溶剂	波长/nm	溶剂	波长/nm
水	200	异丙醇	210	乙酸	250	苯	280
正己烷	200	环己烷	210	乙酸戊酯	250	石油醚	297
正庚烷	200	甘油	230	甲酸	255	吡啶	305
甲醇	210	氯仿	245	乙酸乙酯	255	丙酮	330
乙醇	210	二氯甲烷	245	四氯化碳	255		

6.2 有载体检材

6.2.1 使用合适的溶剂将检材从载体上提取下来。必要时,需用色谱法分离和纯化。

6.2.2 纸张上的墨水字迹(常称为色痕)的提取:取1 cm~1.5 cm的墨水笔道置于盛有能溶解该墨水的合适溶剂的试管中,浸3 min~5 min,用毛细管取出溶剂,待测。

6.2.3 纤维上染料:取2 cm~3 cm有色纤维,置于微型提取器的样品池中,加入约1 mL溶剂,通冷凝水后,加热煮沸1 min~2 min,提取液待测的提取;或将2 mm~5 mm有色纤维置于毛细管中加入1 μ L溶剂,两端封好,置于烘箱中100 $^{\circ}$ C加热20 min,取出后待测。微型提取器见图1。



- 1——冷凝水;
- 2——样品;
- 3——提取剂;
- 4——酒精灯。

图1 微型提取器

6.3 无载体检材

直接用适当溶剂将其溶解成溶液,待测定。必要时,需用色谱法分离和纯化。

7 试验方法

7.1 分析步骤

7.1.1 设定波长范围、吸光度范围、扫描速度等测定参数。

7.1.2 使用溶解试样的溶剂检查样品池和参比池的吸收或透过空白值。

7.1.3 放入样品,扫描,绘制谱图。

7.2 定性分析

7.2.1 目标物认定

根据试样在紫外和可见区域的吸收光谱图,实现化合物的鉴定。这包括谱图中吸收峰的数目、位置、强度(摩尔吸光系数或质量吸光系数)以及吸收峰的形状(极大、极小和拐点)等光谱特征与纯化合物谱图或者谱图册中标准谱图相比较。

7.2.2 未知物检验

对于一个未知化合物,它的紫外吸收光谱可以提供是否含有共轭系统,共轭体系有多大,可能存在的官能团以及其他可能的结构信息。将紫外吸收光谱与其他方法,如红外吸收光谱、质谱、核磁共振波谱等方法所得到的数据进行综合分析,以进一步鉴定未知化合物。

7.2.3 比对检验

即检验该检材是否与某种比对样品(纯化合物或者商品),除了比对峰、谷、肩的位置、数目和形状外,还需比较检材和比对样品的吸光度数值,当这些参数完全相同时才有可能为相同物质。

7.3 定量分析

7.3.1 绝对法

被测物浓度用下式计算:

$$C = A / (B \times \epsilon)$$

式中:

A ——测得的吸光度;

B ——吸收池的厚度,单位为厘米(cm);

ϵ ——被测物摩尔吸光系数。

在没有标准样品的情况下可以利用有关手册或文献报道的值,测样时应使用文献或手册上指明的溶剂。

7.3.2 标准对照法

单组分测定时,配置适当浓度的标准物使其吸光度 A 在 0.27~0.64 之间,当 A 在黄金分割值 0.43 时测量误差最小。待测组分的浓度尽量与标准物浓度相近。另外,确保在待测组分的选定波长下没有其他杂质成分的干扰。

被测物浓度用下式计算:

$$C_{\text{样}} = C_{\text{标}} \times A_{\text{样}} / A_{\text{标}}$$

式中:

$A_{\text{样}}$ ——样品的吸光度;

$A_{\text{标}}$ ——标准品的吸光度;

$C_{\text{标}}$ ——标准溶液浓度。

7.3.3 回归直线法

用最小二乘法求得校准曲线和线性范围后,用插入法,按照下式计算被测样品的浓度。应同时提供标准偏差值,计算公式如下:

$$A = bC + a$$

式中：

A ——被测样品在选定波长处吸光度；

C ——待测组分浓度；

a ——标准曲线截距；

b ——标准曲线斜率。

7.3.4 校准曲线法

配制系列浓度的标准溶液，在相同测定条件下，分别测定吸光度，然后以标准溶液的浓度(C)为横坐标，以相应的吸光度(A)为纵坐标，绘制 A - C 关系图。导数光谱中，应以振幅值($d^n A/d\lambda^n$)与相应的浓度作图，在符合定律时，均可获一直线。根据被分析样品吸光度在曲线上查出被分析样品的浓度。

7.3.5 差示吸收光谱法

用吸收光谱仪进行定量测定时，样品溶液浓度过大或过低，均会使测量误差增大。为了克服这种缺点，改用标准溶液作为参比溶液来调节仪器的 100% 或 0% 透过率，测量样品溶液对标准溶液的透过率。差示吸收光谱法根据参比溶液的不同有三种测定方法：

- a) 高吸收法：用一个比样品溶液浓度稍低的标准溶液作参比溶液，调节仪器的透过率为 100%，然后测定样品溶液的吸光度，这种方法适用于测定高含量的样品；
- b) 低吸收法：用一个比样品溶液浓度稍高的标准溶液作参比溶液，调节仪器的透过率为 0%，再测定样品溶液的吸光度，这种方法适用于痕量物质的测定；
- c) 高精密度法：选择两个组分相同而浓度不同的标准溶液作参比溶液，样品溶液的浓度介于两者之间，先用一个比样品溶液浓度大的作参比，调节透过率为 0%；再用一个比样品溶液浓度小的作参比，调节透过率为 100%，然后测定样品溶液的吸光度。

7.3.6 双波长吸收光谱法

双波长吸收光谱法是利用双波长吸收光谱仪进行吸收光谱测定。由光源发射的光线分别经两个单色器，得到两条不同波长的单色光，交替照射同一溶液吸收池，得到吸光度差值 ΔA 。 ΔA 与溶液浓度之间具有如下关系：

$$\Delta A = (\epsilon_{\lambda_2} - \epsilon_{\lambda_1})bc$$

式中：

ϵ_{λ_1} ——溶液在波长 λ_1 的摩尔吸收系数；

ϵ_{λ_2} ——溶液在波长 λ_2 的摩尔吸收系数。

利用 ΔA 与样品浓度的正比关系进行定量测定。双波长吸收光谱测定时，必须选择合适的波长 λ_1 和 λ_2 。其基本要求是在两个波长处，待测组分和干扰组分应有相同的吸光度，且在两个波长处应有足够大的吸光度值。为满足上述要求， λ_2 选在待测组分的吸收峰处， λ_1 取在干扰组分的等吸收点。若无等吸收点可利用， λ_1 则取在吸收光谱下端某一波长处。

7.3.7 多组分同时测定方法

当溶液中存在 n 个组分时，各组分均遵循比尔定律，而且最大吸收峰互不重叠，此时可以进行多组分同时测定。在测定时，在 n 个波长分别测定样品溶液的吸光度，根据吸光度的加和性，列出相应的 n 个方程。解联立方程组，求得各组分的浓度。

8 结果表述

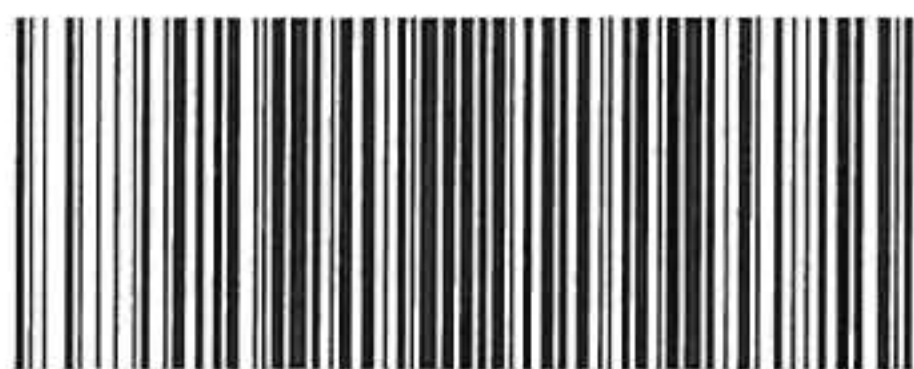
8.1 分析数据的表达

紫外和可见光谱图是常见的分析结果输出形式，不过供分析和计算用的 UV-Vis 光谱也可用各个波长下的吸光度的一组数据来表示。导数光谱则用选定波长处的振幅值的一组数据表示。定量分析的结果是以被测物的浓度表示，并附上标准曲线及其标准偏差。

8.2 结论

根据检材谱图与比对样品谱图或标准谱图在相同介质和/或 pH 条件下进行的定性比较和定量测定,给出检材或检材中的主要成分与比对样品不相同或可能相同的结论。由于紫外和可见吸收光谱谱带数目少,且特征性不强,物质结构上的改变对吸收光谱影响不大,具有同一基团的不同物质具有相似的吸收光谱,某些组分的强吸收带常掩蔽某些弱吸收带等因素,给紫外和可见吸收光谱定性分析带来困难。紫外和可见吸收光谱可作为一种辅助鉴定工具,配合红外光谱、核磁共振波谱和质谱等,对有机化合物进行定性分析。如要求定量分析,应给出含量范围。如无比对样品,应指明选用的标准谱图所代表的标准样品。

www.docin.com



GB/T 19267.2-2008

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-34849

定价: 14.00 元