



中华人民共和国国家标准

GB/T 19267.9—2008
代替 GB/T 19267.9—2003

刑事技术微量物证的理化检验 第9部分：薄层色谱法

Physical and chemical examination of trace evidence in forensic sciences—
Part 9: Thin layer chromatography

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
中国国家标准化管理委员会 发布

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 9 部分。

本部分代替 GB/T 19267.9—2003《刑事技术微量物证的理化检验 第 9 部分：薄层色谱法》。

本部分与 GB/T 19267.9—2003 相比主要变化有：

- 对部分术语和定义作了文字上的修改(本部分和 GB/T 19267.9—2003 的 3.1~3.3、3.6、3.7)；
- 在“定量分析”部分，增加了“定量方法”内容(本部分的 5.3)；
- 在“常用的展开剂系统”中，删除了“涂料分析”(GB/T 19267.9—2003 的 6.3)；
- 在“常用的展开剂系统”中，增加了“纤维上染料的分析”的内容(本部分的 6.5)；
- 对“墨水分析”、“油墨分析”、“油脂分析”三条内容进行了修改(本部分的 6.1、6.2、6.4 和 GB/T 19267.9—2003 的 6.1、6.2、6.5)。

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：中国刑事警察学院。

本部分主要起草人：史晓凡。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 19267.9—2003。

刑事技术微量物证的理化检验

第9部分:薄层色谱法

1 范围

GB/T 19267 的本部分规定了薄层色谱的检验方法。

本部分适用于刑事技术领域中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 9008 液相色谱法术语 柱色谱法和平面色谱法

GB/T 14666 分析化学术语

3 术语和定义

GB/T 9008、GB/T 14666 中确立的以及下列术语和定义适用于本部分。

3.1

薄层色谱法 thin layer chromatography(TLC)

将固定相铺在玻璃等载板上形成均匀的薄层,待分析的样品点加到薄层上,然后用合适的溶剂展开,从而达到分离、鉴定和定量的目的的平面色谱法。

3.2

比移值 ratio of flow

R_f

原点中心至层析斑点中心的距离与原点中心至溶剂(即展开剂)前沿的距离的比值,也称 R_f 值,用下式表示:

$$R_f = \frac{\text{原点中心至层析斑点中心的距离}}{\text{原点中心至展开剂前沿的距离}}$$

3.3

相对比移值 relative R_f value

被分离物质与参比物的比移值之比,或被分离物质与参比物在薄层上的移动距离之比,又称相对 R_f 值。

3.4

吸附剂 adsorbent

具有吸附活性并用于色谱分离的固体物质。

3.5

展开剂 developer

在平面色谱中用作流动相的液体。

3.6

显色剂 developing agent

能够与被分析物质发生化学反应生成有色物质,使色谱分离出的无色斑点变为有色斑点的试剂。

3.7

薄层扫描仪 thin layer scanner

对薄层层析后的斑点进行定量分析的仪器。根据测定方式不同可分单波长和双波长两种形式。

3.8

平面色谱法 planar chromatography

在平面介质上进行组分分离的色谱法,指具有多路柱分离效应的,开放型的色谱法。包括纸色谱、薄层色谱、旋转薄层色谱等。

4 定性分析

4.1 原理

由于被分析样品中各个组分与固定相(吸附剂)和流动相(展开剂)之间的相互作用力不同,当两相相互运动时,使各组分在两相之间反复多次地进行吸附—解析—吸附的交替过程而达到相互分离。吸附力较弱的组分具有较高的 R_f 值,而吸附力较强组分的 R_f 值较低。因此 R_f 值是定性鉴定有机化合物的指标之一。

4.2 薄层色谱板的制备

薄层板通常有软板和硬板两种。前者是将吸附剂直接均匀地铺在玻璃板上;后者是将吸附剂、黏合剂和水或溶剂调成糊状后涂布于玻璃板上。空气中晾干,加热活化处理后得到薄层板。硅胶板需在 $100\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下加热 $1\text{ h}\sim 2\text{ h}$,氧化铝板则需在 $150\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下活化 $4\text{ h}\sim 5\text{ h}$ 。

另外,根据分析物质性质的不同,还有一些特制薄层板,如荧光薄层、混合薄层、酸碱薄层、配位薄层、梯度薄层等。

4.3 点样

将被分析样品用合适溶剂溶解,尽量稀释至 $0.01\%\sim 1\%$ 浓度。定性分析时可用内径为 0.5 mm 的毛细管吸取样品轻轻点于玻璃板下端 1 cm 处。定量分析需用刻度精确的微量注射器点样。若一次点样量不足,可在溶剂挥发后,重复滴加。如果一块薄板上同时点几个样品时,样品之间互相间隔应为 $1\text{ cm}\sim 1.5\text{ cm}$,而且需在同一水平线上。两个边缘的样点距边缘至少 1 cm ,点样后的斑点直径不超过 3 mm 。

4.4 展开

4.4.1 展开方式

展开的方式有上行、下行、近水平、单向、双向和多次展开,通常用上行法,但软板只能采用近水平展开(约 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$)。一般展开至薄板的 $3/4$ 高度,即可取出于空气中干燥。

4.4.2 展开剂的选择

通常先用单一溶剂展开,根据被分离物质在薄层上的分离效果,进一步改变展开剂的极性。展开剂应该使被分离物质各组分间的分离度足够大, R_f 值落在 $0.2\sim 0.8$ 之间,待鉴定物质的 R_f 值在 0.5 左右最佳。对于未知混合物,则要求分离斑点数越多越好。

常用展开剂的极性次序可用溶剂的溶剂强度参数 ϵ° 来衡量。 ϵ° 大,溶剂的洗脱能力强,即为强极性溶剂;反之,洗脱能力弱,为弱极性溶剂。另外常用溶剂根据溶剂极性参数 p' 的不同,可分成八组。若某一溶剂作为展开剂,分离效果不好,则选择相同组中的另一种溶剂对样品的分离效果无明显改变,而选择溶剂强度相同的不同组中的另一种溶剂,则可能改变分离情况。常用溶剂的性质见表 1。

表 1 常用溶剂的性质

溶 剂	溶剂强度参数 e°	溶剂极性参数 p'	选择性组别
异辛烷	0.01	0.1	
正己烷	0.01	0.1	
甲基叔丁基醚	0.35	2.5	1
苯	0.32	2.7	7
乙醚		2.8	1
二氯甲烷	0.42	3.1	5
正丙醇	0.82	4.0	2
四氢呋喃	0.82	4.0	3
乙酯	0.58	4.4	6a
氯仿	0.40	4.1	8
二氧六环	0.56	4.8	6a
丙酮	0.56	5.1	6a
乙醇	0.88	4.3	2
醋酸	大	6.0	4
乙腈	0.65	5.8	6b
甲醇	0.95	5.1	2
水	很大	10.2	8

4.5 显色

4.5.1 荧光显色

在紫外灯(254 nm 或 365 nm)下,观察有无暗斑或荧光斑点,有荧光的物质或有紫外吸收的物质可用此法检出。另外,利用荧光板也可以观测到有紫外吸收物质的各种颜色的暗斑。

4.5.2 显色剂显色

显色剂可以分为两大类:一类是检查一般有机化合物的通用显色剂;另一类是根据化合物分类或特殊官能团设计的专属性显色剂。

最常用的通用显色剂是碘,碘蒸气在浅黄色背景上,很多有机化合物吸附碘,可逆地产生棕色到黄色斑点,不少化合物的检测灵敏度可达到 $0.5 \mu\text{g} \sim 1 \mu\text{g}$ 。

具体专属性显色剂的配制参见有关薄层分析的手册。目前,各类化学显色剂的使用均采用喷雾法,可采用一次或二次喷雾显色。

4.6 R_f 值的测定

4.6.1 测定方法

测量原点中心至组分斑点中心的距离(设为 b)和原点中心至溶剂前沿的距离(设为 a),则 R_f 值用下式计算:

$$R_f = b/a$$

4.6.2 影响 R_f 值重现性的因素

R_f 值在薄层板中的重现性应为 ± 0.02 ,下列因素影响 R_f 值重现性:

- 吸附剂的性质和质量;
- 吸附剂的活度:空气中的湿度,置于空气中时间的长短等;
- 点样量的多少;

- d) 展开剂的饱和程度:不饱和层析缸中的 R_f 值比饱和层析缸中的 R_f 值大;
- e) 边缘效应:同一样品,点在薄层中部的点比点在薄层两边缘处的 R_f 值小;
- f) 薄层板的厚度;
- g) 展开方式:上行与下行展开法的 R_f 值可能不同;
- h) 温度:在用混合溶剂为展开剂时,温度的变化,影响到溶剂的挥发性,使溶剂的组成改变,而影响 R_f 值。

为了使 R_f 值的重现性提高,可采用相对 R_f 值。但最为可靠的方法是使用待测化合物的纯品作对照。

5 定量分析

5.1 原理

薄层定量方法可分为二类:一类是直接定量法,即在薄层展开后直接在板上进行定量测定,如目视比色法和薄层扫描法;另一类是间接定量法,也称洗脱法,即将被测定的化合物自薄层板上洗脱下来,再选择合适的方法测定。目视比较法首先需配置一系列浓度由低到高的标准品溶液,与同体积的样品一起分别点在同一薄层上,展开,显色后,目视比较斑点颜色的深浅和面积大小,求出未知物含量的近似值。该法属于半定量法。

用薄层扫描仪对薄层上被分离的化合物进行直接定量的方法称为薄层扫描法。其工作原理是以一定波长的可见光或紫外光光束照射展开后的薄层板,测定薄层色谱斑点的吸光度(A)或荧光强度(I)随展开距离(L)的变化,所记录的 $A-L$ 或 $I-L$ 曲线称为薄层色谱扫描图,曲线上每一个色谱峰相当于薄层板上的一个斑点,色谱峰高或峰面积与斑点中组分的量有关。

5.2 薄层扫描仪

5.2.1 仪器组成

主要由光源、单色器、检测器及数据处理系统四部分组成。

5.2.2 定量条件的选择

5.2.2.1 扫描方式的选择

常用的扫描方式有下列三种:

- a) 直线扫描:用一束光照射在薄层板的一端,然后缓慢地作直线运动移至另一端,适于小且规则的圆形斑点或条状斑点的定量分析;
- b) 锯齿扫描:用截面积为正方形的光束照射薄层板,光束的运动轨迹为锯齿形或矩形,适于外形不规则斑点的定量分析;
- c) 多通道自动扫描:仪器提供的程序方式,可以完成多通道自动扫描,一次最多可扫描 30 个通道,每扫描完一个通道,就可打印出最多 10 个斑点的色谱峰面积积分值。

5.2.2.2 扫描光束-波长的选择

常用扫描光束-波长的选择有以下四种:

- a) 单光束单波长:适于涂布薄层均匀、显色均匀、背景均匀的斑点测定;
- b) 双光束单波长:测得的是消除薄层空白后斑点的吸收值,增加了仪器的稳定性,可得到较平稳的基线,但不能消除斑点与薄层之间的差别对测定的影响;
- c) 单光束双波长:可扣除斑点背景对测定的影响,但所需扫描时间较长;
- d) 双光束双波长:可消除斑点处薄层的干扰,得到的基线明显改善。

5.3 定量方法

5.3.1 外标法

将被检样品与选用的已知浓度的标准液进行对比,测定被检液含量的定量方法。具体有以下两种:

- a) 外标一点法:用一种已知浓度的标准溶液与被检液对比,测定被检溶液含量的定量方法;
- b) 外标两点法:用两种浓度的标准溶液(或一种浓度、两种点样量)与被检液对比的定量方法。

5.3.2 内标法

选一种纯物质作为内标物,并准确称取其一定的量,加入被检液中,借助内标物的重量,求算被检液中某组分含量的定量方法。具体有以下两种:

- a) 内标一点法:用含有内标物的一种浓度的标准液比对,测定含有内标物的被检液中某种组分含量的方法;
- b) 内标两点法:在被检液和标准溶液中分别加入一定量的内标物,用两种浓度的标准(或一种浓度、两种点样量)与被检液对比的定量方法。

6 常用展开剂系统

6.1 墨水分析

常用的展开剂有以下几种:

- a) S1 异戊醇:吡啶:浓氨水(1:1:1);
- b) S2 正丁醇:乙醇:浓氨水:吡啶(4:1:3:2);
- c) S3 苯酚:水(4:1);
- d) S4 正丙醇:浓氨水:水(3:2:2);
- e) S5 异戊醇:丙酮:水:浓氨水(25:25:15:0.02);
- f) S6 正丁醇:乙醇:水:冰醋酸(6:2:2:1);
- g) S7 正丁醇:丁酮:水:氨水(5:3:1:1);
- h) S8 正丁醇:浓氨水:水(4:1:1);
- i) S9 丁酮:正丁醇:水:无水乙醇(15:24:20:6)(蓝墨水);
- j) S10 异丙醇:正戊醇:水(6:11:3)(红墨水);
- k) S11 正丁醇:丙酮:水:浓氨水(5:3:1:1)(黑墨水);
- l) S12 正丁醇:乙醇:吡啶:浓氨水(4:1:2:3)(碳素墨水)。

6.2 油墨分析

常用的展开剂有以下几种:

- a) S1 苯:四氢呋喃:冰醋酸(20:2.5:0.5);
- b) S2 苯:甲醇(19:1);
- c) S3 乙酸乙酯:异丙醇:冰乙酸:水(2:9:1:3)(圆珠笔油墨);
- d) S4 乙酸乙酯:异丙醇:水:冰乙酸(10:11:3:1)(圆珠笔油墨);
- e) S5 丁酮:异丙醇:氨水(8:30:15)(签字笔油墨);
- f) S6 丁酮:正戊醇:水(10:2:9)(签字笔油墨);
- g) S7 苯:甲醇(10:0.5)(印泥、印油);
- h) S8 环己烷:氯仿:二乙胺(4:1:1)(原子印油)。

6.3 爆炸物分析

6.3.1 雷汞、迭氮化铅以及三硝基间苯二酚的分析

常用的展开剂有以下两种:

- a) S1 丙酮:浓氨水(3:1);
- b) S2 丙酮:1%醋酸铵(9:1)。

6.3.2 TNT、特屈儿、太安及黑索金的分析

常用的展开剂有以下几种:

- a) S1 石油醚：丙酮(9：1)；
- b) S2 石油醚：丙酮(4：1)；
- c) S3 正己烷：苯(1：1)；
- d) S4 正己烷：丙酮(7：3)；
- e) S5 正己烷：丙酮(2：1)；
- f) S6 苯：石油醚(4：1)。

6.4 油脂分析

油脂的展开剂一般选用弱极性的，常用的有以下几种：

- a) S1 正己烷：乙醚(4：1)；
- b) S2 苯：乙酸乙酯(9：1)；
- c) S3 正己烷：乙酸乙酯(4：1)；
- d) S4 正己烷：甲苯：醋酸(10：10：0.7)；
- e) S5 庚烷：乙醚(4：1)(动、植物油)；
- f) S6 庚烷：乙酸乙酯(4：1)(动、植物油)；
- g) S7 四氯化碳：氯仿(15：1)(动、植物油)；
- h) S8 乙醇：丙酮：氯仿(7：2：1)(矿物油)；
- i) S9 乙醇：正己烷(7：3)(矿物油)；
- j) S10 乙醇：丙酮(7：3)(矿物油)。

6.5 纤维上染料的分析

常用的展开剂有以下几种：

- a) S1 乙酸乙酯：冰乙酸：环己烷(17：20：4)(分散染料)；
- b) S2 正己烷：乙酸乙酯：丙酮(5：4：1)(分散染料)；
- c) S3 乙酸乙酯：冰乙酸：水(10：3：2)(酸性染料)；
- d) S4 正丁醇：乙醇：水：冰乙酸(6：1：2：0.5)(酸性染料)；
- e) S5 四氢呋喃：乙醇：冰乙酸(17：10：5)(阳离子染料)；
- f) S6 丁酮：正丁醇：水(3：3：1)(阳离子染料)；
- g) S7 乙酸乙酯：甲醇：水(15：5：6)(直接染料)；
- h) S8 异丙醇：乙酸乙酯：水(35：6：12)(直接染料)；
- i) S9 丙酮：乙酸乙酯：水：冰乙酸(36：6：9：1.5)(活性染料)；
- j) S10 异丙醇：乙酸乙酯：水(35：5：12)(活性染料)；
- k) S11 乙酸丁酯：吡啶：水(17：21：12)(还原染料)；
- l) S12 氯仿：四氢呋喃：乙酸丁酯：冰乙酸(3：3：4：5)(还原染料)；
- m) S13 丙酮：乙酸乙酯：水：离子对(15：20：10：0.68)(硫化染料)；
- n) S14 异丙醇：甲醇：水：氨水(24：18：16：3)(硫化染料)；
- o) S15 环己烷：乙酸乙酯：丙酮(25：20：6)(冰染染料)；
- p) S16 环己烷：乙酸乙酯：冰乙酸(17：20：4)(冰染染料)。

7 结果表述

7.1 薄层色谱的检验报告应提供检材中至少含有的组分数目、颜色(白光和紫外光下)以及它们的 R_f 值。

7.2 检材与比对样品同时在三种不同类型的展开剂中(最好为中性、酸性、碱性)进行层析，若斑点的数

目、颜色和 R_f 值均相同,则可以认为相同。

7.3 检材与比对样品同时在三种不同类型的展开剂中(最好为中性、酸性、碱性)进行层析,若主要斑点的数目、颜色和 R_f 值相同,次要斑点数目不同,但颜色无明显差异,且大部分 R_f 值相同,则可认为相近。

7.4 检材与比对样品同时在三种不同类型的展开剂中(最好为中性、酸性、碱性)进行层析,若主要斑点数目不同或主要斑点颜色有明显差异或 R_f 值也有差异,或者次要斑点在颜色上有明显差异,则认为不同。
