

# 黑色圆珠笔油墨的高效液相色谱法分析

王炳娟, 王志勇, 邹 洪

(首都师范大学 化学系, 北京 100048)

**摘 要:** 建立了黑色圆珠笔油墨字迹色痕的高效液相色谱法的分析条件和实验方法, 采用乙腈 -  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  溶液 (10 mmol/L) (体积 60 : 40) 为流动相, 检测波长 580 nm, 同时利用质谱法作为佐证。在此条件下对市售的 51 支不同生产厂家和品牌黑色圆珠笔油墨的字迹色痕进行了分析, 根据油墨中所含染料成分的差异将其分为 6 大类, 考察了纸张的影响及在该分析条件下结果的精密度和重复性。

**关键词:** 黑色圆珠笔油墨; 高效液相色谱法; 字迹色痕; 种类

**中图分类号:** O657.72; TS802.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2008)10 - 1103 - 04

## Analysis of Black Ballpoint Pen Inks by High Performance Liquid Chromatography

WANG Bing-juan, WANG Zhi-yong, ZOU Hong

(Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography (HPLC) method was established to analyze black ballpoint pen inks by using acetonitrile -  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (10 mmol/L) (60 : 40, by volume) as mobile phase and detecting at 580 nm. Mass spectra (MS) were used to further recognize structures of dye compounds in the inks. 51 different kinds of black ballpoint pen inks from different manufactures were classified into six different categories depending on the disparities of their dye components. The influence of 10 different types of papers on dye determination was discussed, and the precision and repeatability of the method were investigated under optimized experimental conditions.

**Key words:** black ballpoint pen inks; high performance liquid chromatography; handwriting; kind

圆珠笔以其书写流畅、字迹稳定、经久耐用等优点而倍受青睐。在物证鉴定中, 对可疑文件上圆珠笔字迹色痕的种类及书写时间的认定是重要内容之一。目前文献报道对圆珠笔油墨字迹色痕的分析方法有显微激光拉曼光谱法<sup>[1]</sup>、薄层色谱法<sup>[2]</sup>、液相色谱法<sup>[3]</sup>、毛细管电泳法<sup>[4]</sup>、质谱法<sup>[5]</sup>及色质联用<sup>[6]</sup>等, 其中高效液相色谱法是一种常用的分析方法。本文建立了高效液相色谱法分析黑色圆珠笔油墨字迹色痕的实验方法和分析条件, 同时利用质谱法对油墨中部分染料进行了确认, 并分析了 51 支市售黑色圆珠笔油墨的字迹色痕。依据其中所含染料成分的不同对国内市场上销售的不同厂家、不同品牌的黑色圆珠笔进行分类, 考察了纸张的影响及在该条件下分析结果的重复性和精密度。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, Waters 717 plus 自动进样器, 恒温柱箱 (Waters 公司, 美国); 色谱柱: Xterra MS  $\text{C}_{18}$  3.9 mm  $\times$  150 mm (Waters 公司, 美国); Micromass Q Tof 质谱仪 (Waters 公司, 美国); Millipore 超纯水器 (Millipore 公司, 美国); 微孔滤膜 (0.45  $\mu\text{m}$ )。

乙酸乙酯、冰乙酸、乙酸钠、碳酸氢铵等为分析纯。乙腈、甲醇为色谱纯 (Merck 公司, 德国)。标准品: 甲基紫 (C. I. 42535, Fluka 公司, 瑞士)、结晶紫 (C. I. 42555, Acros Organics, 美国)、碱性艳蓝 B (C. I. 44045, Sigma 公司, 美国)、罗丹明 B (C. I. 45170, 北京化工厂)、磺化铜酞菁 (C. I. 74160, Acros Organics, 美国)、碱性橙 (C. I. 11270, 北京化工厂)、碱性嫩黄 (C. I. 41000, 东京

收稿日期: 2007 - 10 - 25; 修回日期: 2008 - 01 - 04

第一作者: 王炳娟 (1983 - ), 女, 山西晋城人, 硕士研究生, Tel: 010 - 68902490, E-mail: wangbj - jc@163.com

化成工业株式会社)。标准溶液分别用乙腈配制成 0.01 kg/L 的标准储备液。实验时以乙腈配制成所需浓度的工作溶液。样品：中国大陆、中国香港、中国台湾、韩国、日本、德国和英国生产的 51 支黑色圆珠笔，复印纸(百旺牌 A4 打印纸)。

## 1.2 实验条件

色谱条件：流动相为乙腈 -  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  溶液 (10 mmol/L) (体积比为 60 : 40)；进样量 10  $\mu\text{L}$ ；流速 0.8 mL/min；柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ；二极管阵列检测器。

质谱条件：毛细管电压 3 175 V；锥孔电压 30 V；离子源温度 80  $^{\circ}\text{C}$ ；脱溶剂温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ；碰撞能量 10 eV；脱溶剂气流速 450 L/h；正离子模式。

## 1.3 样品的制备及测定

将不同圆珠笔在 A4 复印纸上划线，用洁净的手术刀截取 3 cm 长、2 mm 宽的纸片，剪碎，放入小试管中，加入 600  $\mu\text{L}$  提取剂 (乙腈 - 水的混合溶液，体积比 60 : 40)，静置 10 min，过膜后取 10  $\mu\text{L}$  进行 HPLC 分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 条件优化实验

2.1.1 提取剂的选择 试验了甲醇、乙腈、异丙醇、正丁醇、乙酸乙酯、二甲亚砜、N, N-二甲基甲酰胺等提取剂的提取效果，实验表明，乙腈 - 水的混合溶液 (体积比 60 : 40) 为提取剂时所得的峰面积最大且峰形较好。

2.1.2 流动相的选择 考察了不同流动相比比例和梯度程序。由于流速较高，乙腈比例不宜低，最终选定乙腈 - 10 mmol/L  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (体积比 60 : 40)。对比了不同梯度程序的分离结果，没有明显的差异，为提高分析效率采用等度洗脱。

2.1.3 检测波长的选择 黑色圆珠笔中不同染料的最大吸收波长不同，如磺化铜酞菁、结晶紫、罗丹明 B 的最大吸收波长分别为 667、592、547 nm，而碱性橙、碱性嫩黄最大吸收波长分别是 411、436.8 nm。为能同时检测到不同吸收波段的物质，而又不会使检测的灵敏度降低，本文选择检测波长为 580 nm。

2.1.4 纸张的影响 研究了 10 种不同类型纸张对测定的影响，实验发现：虽然不同纸张上字迹的峰面积不同，但峰面积比基本相同，且纸张上提取物在 350 nm 以上基本没有吸收，而染料在可见光区有吸收，可以认为纸张类型对染料的分析没有影响。

### 2.2 染料的分析结果

各染料的分析结果见图 1。当选择液相色谱 - 质谱分析为负离子模式时，测得峰 1 为磺化铜酞菁 ( $m/z$  734)。当选用正离子模式时，测得峰 8 为碱性艳蓝 B ( $m/z$  470)，峰 6 为结晶紫 ( $m/z$  为 372)，峰 2 为罗丹明 B ( $m/z$  443)，另外，峰 5、4 和 3 的  $m/z$  分别为 358、344 和 330。通过对染料标准品的分析发现：油墨中使用的各种染料并不一定是单一组分的“纯”染料，可能含有其同系物成分。如甲基紫中含有对位四甲基品红及其同系物结晶紫，这 3 种物质结构相近，文献 [7] 报道了它们的自然老化过程：结晶紫 ( $m/z$  372) 脱去 1 个甲基，同时加上 1 个溶剂化的氢原子得到甲基紫 ( $m/z$  358)，甲基紫再脱去 1 个甲基，加 1 个氢原子得到对位四甲基品红 ( $m/z$  344)，对位四甲基品红继续脱甲基得到相对分子质量更小的同系物 (峰 3,  $m/z$  330)。

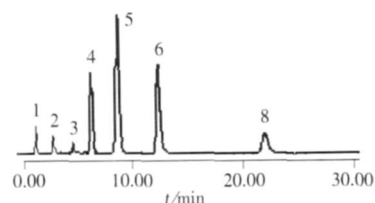


图 1 各染料标准品混合物的 HPLC 谱图 (580 nm)

Fig. 1 High performance liquid chromatogram of mixed standard dyes (580 nm)

1. sulfonated copper phthalocyanine;
2. rhodamine B; 3. homologue of tetramethyl pararosanilin;
4. tetramethyl pararosanilin; 5. methyl violet; 6. crystal violet; 8. victoria blue B

### 2.3 样品的分析结果

黑色圆珠笔油墨的组成相对比较复杂，有碱性染料如三芳甲烷类染料、酸性染料及其他类型的辅剂。不同厂家生产的不同品牌的圆珠笔油墨中所含的染料可能不同，其染料的中间产物和副产物也有可能不同，而这些差异会反映在色谱图中，另外，对于同一品牌不同型号的圆珠笔，其组成也有可能不同，具体表现在峰数、保留时间和峰面积等的差异上，以此为依据，可以对黑色圆珠笔进行区分。

通过对市售的 51 支黑色圆珠笔油墨字迹提取液的液相色谱分析，作者发现这些黑色圆珠笔基本上含有蓝色圆珠笔中的染料，如对位四甲基品红、甲基紫、结晶紫、碱性艳蓝 B、罗丹明 B 和磺化铜酞菁<sup>[8]</sup>。作者根据这些已知的染料和所得色谱图 (580 nm) 中的峰数和紫外吸收光谱将这些黑色圆珠笔分为 6 大类。其中、 类样品色谱峰的保留时间在 15 min 以内，第、 类样品的最后 1 个组分保留时间在 30 min 以内，且各类圆珠笔油墨之间在峰数、峰形和峰面积比上也各有差异，见图 2。

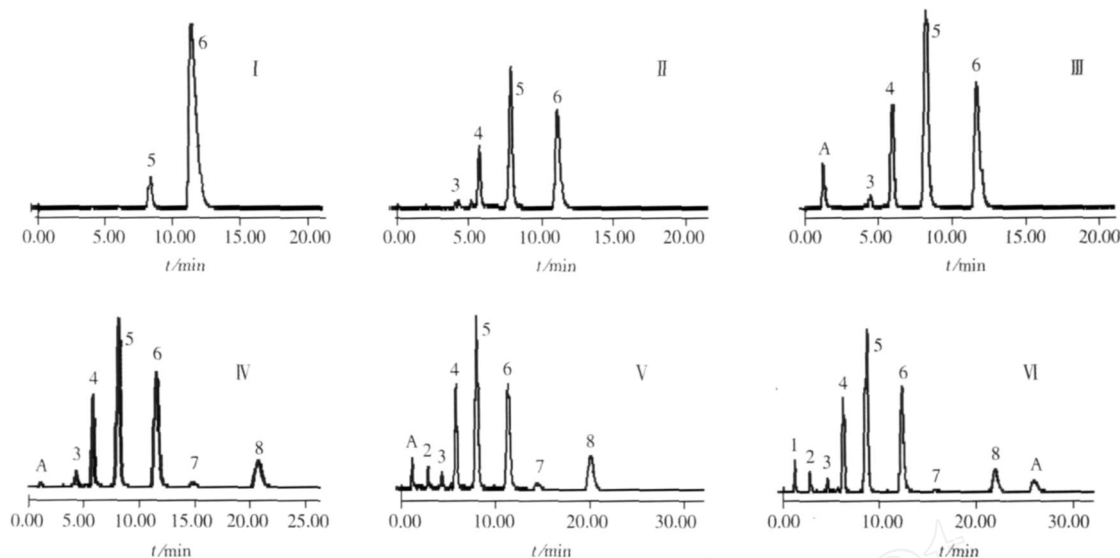


图 2 6 类黑色圆珠笔油墨的典型色谱图 (580 nm)

Fig. 2 High performance liquid chromatograms of 6 types of black ballpoint pen inks (580 nm)

1. sulfonated copper phthalocyanine; 2. rhodamine B; 3. homologue of tetramethyl pararosanilin;
4. tetramethyl pararosanilin; 5. methyl violet; 6. crystal violet; 7. homologue of victoria blue B;
8. victoria blue B; A. unknown peak (未知峰)

第 类笔中含有结晶紫和甲基紫，第、 和 类笔中只含有对位四甲基品红、甲基紫、结晶紫、碱性艳蓝 B 等三芳甲烷类染料，第 类还含有罗丹明类荧光染料 (罗丹明 B)，第 类除上述 5 种染料外都含有磺化铜酞菁。实验发现，碱性艳蓝 B 不是纯品<sup>[9]</sup>，其主要成分是碱性艳蓝 B (峰 8) 及其同系物 (峰 7)，其  $m/z$  为 456，但所占比例很小。

由于采用二极管阵列检测器，可以在 200~700 nm 范围内进行扫描。实验发现在 350~450 nm 范围内能检测到更多的色谱信息。其中包括碱性橙、碱性嫩黄 (均为第 类主要成分) 和几个含量较大的未知峰。

## 2.4 检出限

取不同长度的字迹色痕按“1.3”的实验方法测定，实验结果表明：随着取样量的增大，各物质的峰面积亦增大，当截取字迹色痕长度为 15 cm 时，峰面积达到最大；而 0.3 cm 长样品的色谱峰信噪比为 3。所以，0.3 cm 长的字迹色痕为检出限。考虑实际检测的要求，本文选择 3 cm 字迹色痕进行实验。

## 2.5 重复性与精密度

为了避免书写力度、笔的出油量等因素对字迹色痕深浅的影响，本文采用相对峰面积 (以结晶紫为标准) 进行分析。取同一黑色圆珠笔油墨按“1.3”的实验方法进行重复性实验，结果表明：各物质峰面积比的相对标准偏差小于 5.1% ( $n=5$ )，而各物质保留时间的相对标准偏差小于 1% ( $n=5$ )，可见本方法具有较好的重复性。

## 参考文献：

- [1] 徐彻, 汤纯, 杨延勇, 等. 显微激光拉曼光谱法鉴别黑色圆珠笔油墨的初步研究 [J]. 法医学杂志, 2000, 16(4): 244 - 245.
- [2] 赵鹏程, 王彦吉, 崔岚, 等. 薄层色谱法分析圆珠笔色痕形成时间 [J]. 色谱, 2001, 19(4): 282 - 284.
- [3] ANDRASKO J. HPLC analysis ballpoint pen ink stored at different light conditions [J]. Forensic Sci, 2001, 46(1): 26 - 30.

(下转第 1109 页)

变为 1:30 时, 配合物水溶液出现新的吸收主峰, 且发生红移。

(3) pH 值对 4.0 代聚酰胺胺树状大分子与  $\text{Cu}^{2+}$  配位体系有很大的影响, 这为其在处理金属离子废水中的循环使用提供了理论依据。

(4) 温度可以使聚酰胺胺树状大分子与  $\text{Cu}^{2+}$  配合物水溶液在可见光区的吸收强度增加。

(5) 在配位反应 2 h 后, 再延长时间对配位体系影响很小, 配合物的吸收光谱基本没有变化。

#### 参考文献:

- [1] 章昌华, 胡剑青, 涂伟萍. 聚酰胺胺树形大分子的应用研究进展 [J]. 化工进展, 2005, 24(6): 592 - 595.
- [2] 章昌华, 胡剑青, 涂伟萍. 聚酰胺胺 (PAMAM) 树状分子在我国的研究进展 [J]. 材料导报, 2005, 19(9): 33 - 35.
- [3] BHARATHID, RONALD A H, MELGARDT M V. The effect of PAMAM dendrimer generation size and surface functional group on the aqueous solubility of nifedipine [J]. Int J Pharm, 2004, 284: 133 - 140.
- [4] HU Yang, MORRIS J J, LOPNAST T. Polyethylene glycol-polyamidoamine dendritic micelle as solubility enhancer and the effect of the length of polyethylene glycol arms on the solubility of pyrene in water [J]. J Colloid Interface Sci, 2004, 273: 148 - 154.
- [5] BU J, JUDEH Z M A, CHENG C B, et al. Epoxidation of olefins catalyzed by  $\text{Mn}(\text{salen})$  complex anchored on PAMAM- $\text{SiO}_2$  dendrimer [J]. Catal Lett, 2003, 85(3/4): 183 - 187.
- [6] KUNDE, KEIKO M, TOMOKAZU Y. Comparison of PAMAM-Au and PPI-Au nanocomposites and their catalytic activity for reduction of 4-nitrophenol [J]. J Colloid Interface Sci, 2002, 254: 402 - 405.
- [7] LEI Ziqiang, YANG Zhiwang, HAN Qiaorong, et al. Oxidation of cyclohexene catalyzed by PAMAM-SA-M dendrimers [J]. Chin Chem Lett, 2002, 13(6): 491 - 494.
- [8] 王俊, 杨锦宗, 陈红侠, 等. 发散法合成树枝状高分子聚酰胺胺 [J]. 合成化学, 2001, 9: 62 - 64.
- [9] 李国平, 罗运军, 徐厚才, 等. 银离子与聚酰胺胺型树形高分子配位作用的研究 [J]. 无机化学学报, 2003, 19(11): 1212 - 1216.
- [10] DIALLO M, BALOGH L, SHAFAGATIA, et al. Polyamidoamine dendrimers: a new class of high capacity chelating agents for  $\text{Cu}(\text{II})$  ions [J]. Environ Sci Technol, 1999, 33(5): 820 - 825.

(上接第 1105 页)

- [4] VOGT C, BECKER A. Investigation of ballpoint pen inks by capillary electrophoresis with UV/VIS absorbance and laser induced fluorescence detection [J]. Electrophoresis, 1998, 19: 31 - 41.
- [5] CELINE, WYER M, DITTEL L, et al. Photofading of ballpoint dyes studied paper by LDI and MALDI-MS [J]. Mass Spectrom, 2006, 17: 297 - 306.
- [6] JURGEN H, BUGLER, HANSB, et al. Characterization of ballpoint pen inks by thermal desorption and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Forensic Sci, 2005, 50(5): 1 - 6.
- [7] GRIMM D M, SIEGEL J, ALLISON J. Does ink age inside of a pen cartridge [J]. Forensic Sci, 2002, 47(6): 1294 - 1297.
- [8] 王炳娟, 马秋凤, 邹洪. 薄层色谱法鉴定蓝色圆珠笔中油墨的研究 [J]. 分析试验室, 2007, 26(增刊): 6 - 9.
- [9] NGL K, LAFONTA NE P, BRAZEAU L. Ballpoint pen inks: characterization by positive and negative ion-electrospray ionization mass spectrometry for the forensic examination of writing inks [J]. Forensic Sci, 2002, 47(4): 1238.