

# 区带毛细管电泳法分析黑色签字 笔墨水字迹相对形成时间

王彦吉<sup>1</sup>, 赵鹏程<sup>2</sup>, 徐媛媛<sup>3</sup>, 王景翰<sup>1</sup>

(1. 中国人民公安大学, 北京 100038; 2. 中国刑警学院法化专业, 沈阳 110035;  
3. 广东警官学院 广州 510000)

[摘要] 讨论了优化电泳条件建立区带毛细管电泳法分析黑色签字笔字迹墨水的分析方法, 采用 20 mmol/L 四硼酸钠, pH 8.5, 未涂层熔融石英毛细管内径 100  $\mu\text{m}$ , 有效柱长 40 cm, 15 kV 分离电压, 光二极管阵列检测器 (PDA), 检测波长 190~600 nm 的电泳分离条件, 对不同种类黑色签字笔字迹墨水提取液进行了分析; 利用毛细管电泳 PDA 检测器在可见光波长下检测出的黑色签字墨水中不同染料相对含量的变化关系, 研究了字迹相对形成时间问题, 得出较好的变化规律。

[关键词] 黑色签字笔墨水; 区带毛细管电泳; 相对形成时间

[中图分类号] D918.92 [文献标识码] A [文章编号] 1009-1742 (2007) 02-0025-05

文件相对形成时间的鉴定一直是国内外法庭科学研究领域的热点和难点问题。随着我国经济的快速发展, 在许多经济案件或经济纠纷中都涉及到对文件物证上的字迹相对形成时间进行检验, 特别是签字笔问世以后, 由于其兼具钢笔和圆珠笔书写流畅、携带方便的优点, 在各行各业得到了广泛使用, 目前要求鉴定黑色签字笔字迹相对形成时间的案件日益增多, 如何建立一种准确、可靠的分析方法是司法鉴定工作提出的新挑战。本文利用区带毛细管电泳 (CZE) 法<sup>[1,2]</sup>对几十种黑色签字笔的墨水进行了分析, 确定了最佳电泳条件, 并通过墨水中不同染料相对含量的变化规律研究了黑色签字笔字迹的相对形成时间, 得到了比较理想的老化曲线。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂及样品

Beckman P/ACE 5510 毛细管电泳仪, 光二极管阵列 (PDA) 检测器, 熔融石英毛细管; 0.5% 草酸氢钾、四硼酸钠、磷酸二氢钠、盐酸、氢氧化钠、氨水、乙醇、甲醇、N, N-二甲基甲酰胺、

1, 4-二氧六环、冰乙酸、乙腈、异丙醇、娃哈哈纯净水; 编号为 1 (PAKER 派克), 39 (SCHNEIDER TOPBALL 861 03 Germany), 41 (STAEDTLER NORIS Pen 333 Germany), 48 号 (ZEBRA Be-pen Japan) 黑色签字笔。

### 1.2 实验方法

取 2 cm 长黑色签字笔字迹笔画, 剪碎置于 0.5 mL 离心试管中备用。分别取 0.1 mL 的 0.5% 草酸氢钾、氨水、缓冲溶液 (55 mmol/L 磷酸二氢钠、25% 甲醇、10 mmol/L 四硼酸钠)、乙醇、甲醇、N, N-二甲基甲酰胺、1, 4-二氧六环、冰乙酸、乙腈、异丙醇溶液, 滴入制备好的样品中盖好试管盖密封, 提取一段时间后, 取上清液, 进行毛细管电泳分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 黑色签字笔墨水字迹提取条件的确定

采用不同提取剂对黑色签字笔字迹墨水进行提取实验, 从有色成分的提取效果来看, 甲醇、乙腈和 0.5% 草酸氢钾提取效果最好, 但是甲醇和乙腈

[收稿日期] 2006-04-20

[基金项目] 国家高技术产业发展项目 (20019300007)

[作者简介] 王彦吉 (1948-), 男, 辽宁省辽阳市人, 中国人民公安大学教授, 博士生导师;

赵鹏程 (1973-), 男, 辽宁省锦州市人, 东北师范大学化学系博士生, E-mail: zhaopch@sohu.com

提取液在电泳分离过程中会发生电流中断现象,因此确定 0.5%草酸氢钾作为提取剂。黑色签字笔墨水物理吸附在纸张的表面,并没有与纸张纤维发生化学反应,所以室温条件下提取即可取得理想效果,不需要高温和强烈振荡,但提取 10 min 较短,染料成分提取不完全,20 min 与 15 min 提取效果相同,进行 CZE 分析时电泳峰的峰面积几乎相等,所以确定最佳提取时间为 15 min。

## 2.2 黑色签字笔墨水字迹提取液 CZE 分析条件的确定

在一定 pH 条件下,黑色签字笔墨水中的不同组分会发生电离,这些离子在高压直流电场的作用下迁移速度不同,从而可以实现墨水中混合成分的分。实验表明,酸性缓冲体系不能使墨水中的所有成分都电离,主要是酸性染料成分不能被完全分离;而在碱性缓冲溶液中分离效果则大大改善。选用毛细管电泳中最常用的磷酸盐缓冲体系进行实验,初步确定最佳 pH 范围为 8~9 之间。磷酸缓冲体电流过高,电泳分离运行不稳定;硼酸钠缓冲体系的分离效果较好,电泳分离也比较稳定。笔者采用均匀设计方法对初步筛选的四硼酸钠缓冲体系,柱长(径)及电泳电压优化选择,以确定最佳实验条件,分析因素水平表见表 1。

表 1 分析因素水平表

Table 1 Levels of analysis elements

编号	柱长及柱径 (cm×μm)	缓冲体系	电压 /kV
(1)	40×100	20 mL 30 mmol/L 四硼酸钠 +5 mL 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	20
(2)	50×100	20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	15
(3)	40×50	20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	20
(4)	40×75	10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	15
(5)	40×200	20 mL 30 mmol/L 四硼酸钠 +5 mL 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	20
(6)	40×100	20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	15
(7)	50×100	20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	20
(8)	40×50	10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	15
(9)	40×75	20 mL 30 mmol/L 四硼酸钠 +5 mL 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	20
(10)	40×200	20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	15
(11)	40×100	20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	20
(12)	50×100	10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	15

根据上述因素水平表按  $U_{12}$  ( $12^{11}$ ) 表进行均匀设计,得因素实验安排表和分析结果(表 2)。

表 2 因素实验安排表及实验结果

Table 2 Experiments and results

实验	柱长及柱径 (cm×μm)	缓冲体系	电压 /kV	实验结果
1	(1) 40×100	(3) 20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	(4) 15	紫外区和可见区有较强吸收峰,分析时间适中
2	(2) 50×100	(6) 20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	(8) 15	分析时间较长
3	(3) 40×50	(2) 30 mmol/L 四硼酸钠 + 5 ml 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	(12) 15	可见区无吸收峰,图谱中多出现气泡峰
4	(4) 40×75	(12) 10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	(3) 20	可见区无吸收峰,电压高电流不稳
5	(5) 40×200	(2) 20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	(7) 20	分离和检测效果不好,电压高电流不稳
6	(6) 40×100	(5) 30 mmol/L 四硼酸钠 + 5 ml 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	(11) 20 kV	电压高电流不稳,图谱中多气泡峰
7	(7) 50×100	(8) 10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	(2) 15	分析时间长
8	(8) 40×50	(11) 20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	(6) 15	可见区无吸收峰
9	(9) 40×75	(1) 30 mmol/L 四硼酸钠 + 5 ml 1% 四丁基氢氧化氨 pH 8	(10) 15	可见区无吸收峰;图谱中多气泡峰
10	(10) 40×200	(4) 10 mmol/L 四硼酸钠 pH 8	(1) 20	分离效果不好;电压高电流不稳
11	(11) 40×100	(7) 20 mmol/L 四硼酸钠 pH 8.5	(5) 20	电压高电流不稳
12	(12) 50×100	(10) 20 mmol/L 四硼酸钠 + 10% 甲醇 pH 8	(9) 20	分离时间长;电压高电流不稳

根据表 2 的实验安排得到不同条件下 48 号黑色签字笔墨水提取液电泳图,比较实验结果最后

确定 20 mmol/L 四硼酸 pH 8.5, 毛细管柱 100 μm × 40 cm, 分离电压 15 kV 为最佳分离条件。本实验所使用的二极管阵列检测器的检测范围是 190~600 nm, 在使用直径为 50 μm 或者 75 μm 的毛细管柱, 分离组分只在紫外区有吸收, 而用直径 100 μm 的毛细管柱分离时, 紫外区和可见区都获得较强的吸收峰, 而且各组分之间也都达到了逐一分离 (见封面或图 1)。根据吸光度理论检测光路与吸收强度

成正比, 本实验所使用的 Beckman P/ACE 5510 毛细管电泳仪的检测器部分决定了吸收峰的检测强度与毛细管柱的管径成正比, 直径 100 μm 的毛细管柱增加了检测光路的长度, 使可见区的吸收峰被检测出, 这对分析有色成分, 排除纸张成分紫外吸收干扰是非常有利的。毛细管柱的长度影响组分的分离度及分离时间, 柱长为 40 cm 或者 50 cm 时, 墨水的分离效果都很好, 柱长为 50 cm 时, 分析时间较长, 因此选择分析适中的 40 cm 作为本实验的毛细管柱长。

### 2.3 黑色签字笔墨水字迹相对形成时间的研究

在对黑色签字笔墨水相对形成时间进行定量分析时, 为了消除取样量、书写力度、笔道粗细及出墨等因素影响而造成的误差, 可以利用同一波长或不同波长下不同迁移时间的染料 A 相对于染料 B 的变化率 (即电泳峰面积比) 随时间的变化规律来确定字迹的相对形成时间。图 2 为不同种类的黑色签字笔墨水字迹中染料成分相对含量与时间的变化曲线, 为寻找曲线的变化规律, 采用统一规则来计算染料成分的相对变化率。  $r = A(t, \lambda) / B(t, \lambda)$ , 其中  $r$  为染料成分相对变化率,  $A(t, \lambda)$  和

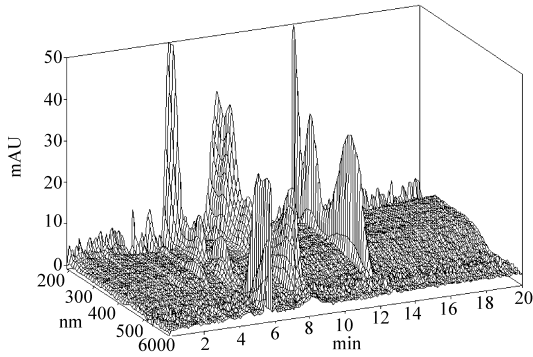


图 1 48 号签字笔字迹墨水提取液的三维电泳图

Fig.1 Electropherogram of number 48 black roller pen ink

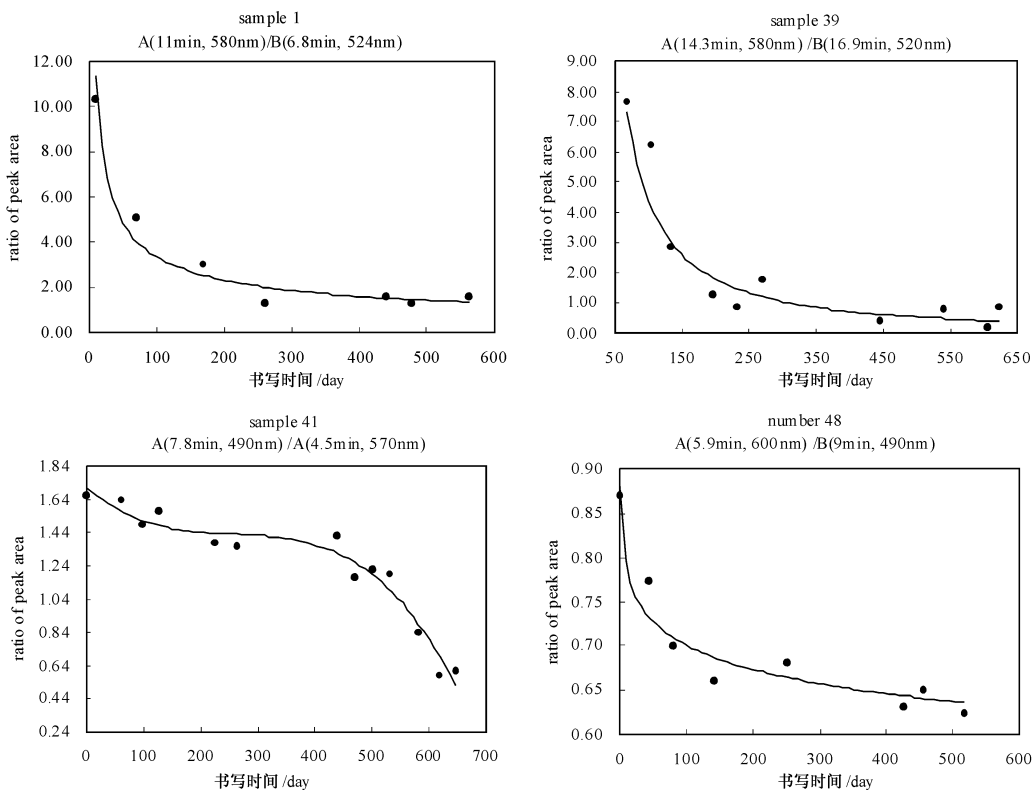


图 2 黑色签字笔墨水字迹中染料成分相对变化率与时间的变化曲线

Fig.2 Relative change ratios vs age curves of dyes in black roller pen ink entry

$B(t, \lambda)$  分别为两种染料成分的峰面积,  $t$  和  $\lambda$  分别为两种染料成分电泳峰的迁移时间和检测波长。

对不同种类黑色签字笔墨水的分析表明, 墨水中染料成分相对变化率随时间分为三种变化情况(见图2): 1号和48号这类签字笔染料的变化分为三个阶段: 迅速下降、缓慢下降和平衡阶段。即最初染料A大量分解而染料B的分解速率较慢, 曲线呈迅速下降趋势; 150天之后染料A的分解速率逐渐降低; 曲线缓慢降低, 最后两者的分解速率相近, 曲线进入平衡阶段。39这类签字笔染料的变化分为两个阶段: A与B的分解速率的比值逐渐降低, 曲线缓慢降低; 250天之后两者峰面积比呈现出缓慢变化的趋势。41号这类签字笔染料的变化分为两个阶段: 第一阶段, 染料A和染料B分解速率相近, 染料变化率几乎不发生变化; 第二阶段曲线迅速下降, 染料A大量分解, 速率较快, 而染料B分解的量很少, 因此两者的峰面积比呈现出迅速下降的趋势。

黑色签字笔字迹墨水中的染料成分主要受到空气中氧的破坏, 它们可以直接参与染料激发态的氧化作用, 或通过氧化作用使染料发生变化, 也可以和染料分子激发态之间发生能量转移, 能量转给氧分子转化成单态氧, 这种单态氧进一步扩散和染料作用而使其褪色, 同时墨水中染料成分的含量不断地减少, 这也成为字迹形成时间的鉴定的重要依据。

#### 2.4 重现性实验

在书写过程中, 由于书写力度的差异及黑色签字笔墨水出墨不均匀等因素的影响, 会导致字迹笔画的粗细不同, 这将给字迹墨水的定量研究带来很大的误差, 为了消除上述因素造成的测量误差, 笔者采用同一波长或者不同波长不同峰的峰面积的相对比值作为分析的标准。以存放78天的1号黑色签字笔墨水字迹为例, 分别选取不同笔道处的字迹墨水进行测定, 计算部分电泳峰的迁移时间和可见波长下电泳峰面积比值的相对标准偏差(见表3, 4)。结果表明, 黑色签字笔墨水成分的电泳峰的迁移时间, 和用于分析墨水相对形成时间的峰面积比的相对标准偏差均在误差允许的范围内, 说明笔者所建立的分析方法是可靠的。

表3 1号黑色签字笔墨水电泳迁移时间的相对标准偏差

Table 3 Relative standard deviation of number 1 roller pen ink's migration time

	迁移时间 /min (524 nm)	迁移时间 /min (524 nm)	迁移时间 /min (580 nm)	迁移时间 /min (580 nm)
1	6.917	7.079	11.296	14.729
2	6.838	6.971	11.167	14.563
3	6.858	7.012	11.308	14.637
4	6.771	6.921	11.196	14.679
5	6.679	6.833	11.746	13.929
MEAN	6.812 6	6.963 2	11.342 6	14.507 4
STDEV	0.091 1	0.092 9	0.233 7	0.329 0
RSD/%	0.013 4	0.013 4	0.020 6	0.022 7

表4 1号黑色签字笔墨水染料成分相对变化率相对标准偏差

Table 4 Relative standard deviation of relative changes of dyes in number 1 roller pen ink

	(6.8 min, 524 nm) 峰面积	(6.963 2 min, 524 nm) 峰面积	染料成分相 对变化率峰 面积比值
1	54 738	19 770	0.361 2
2	21 743	6 937	0.319 0
3	39 295	16 585	0.442 1
4	18 033	7 679	0.425 8
5	18 479	5 213	0.282 1
MEAN	—	—	0.362 0
STDEV	—	—	0.063 1
RSD/%	—	—	0.174 2

### 3 结论

确定了黑色签字笔墨水的最佳电泳分析条件, 并通过测定黑色签字笔墨水中染料成分变化速率, 建立了黑色签字笔墨水字迹相对形成时间的关系曲线, 可以分析至少600 d以内(受实验样品限制)的黑色签字笔墨水字迹的相对形成时间, 为司法鉴定提供了理论依据。

参考文献

[ 1 ] Vogt C, Vogt J, Becker A, et al. Separation, comparison and identification of fountain pen inks by capillary electrophoresis with UV-visible and fluorescence detection and by proton-induced X-ray emission[J]. Journal of

Chromatography A, 1991,781: 391~405

[ 2 ] Rohde E, McManus AC, Vogt C, et al. Separation and comparison of fountain pen inks by capillary zone electrophoresis[J]. J Forensic Sci, 1997, 42(6): 1004~1011

## Relative writing age analysis of the black roller pen inks by capillary zone electrophoresis

Wang Yanji<sup>1</sup>, Zhao Pengcheng<sup>2</sup>, Xu Yuanyuan<sup>3</sup>, Wan Jinghan<sup>1</sup>

(1. Chinese People Public Security University, Beijing 100038, China;  
2. Forensic Chemistry Department of China Criminal Police College, Shenyang 110035, China;  
3. Guangdong Police College, Guangzhou, 510000, China)

[Abstract] The analytical method for roller pen inks was established by capillary zone electrophoresis. After optimizing such conditions as 20 mmol/L borate buffer at pH 8.5, 100  $\mu\text{m} \times 40$  cm fused silica capillary column, separation voltage of 15 kV, photo diode array (PDA) detector and scanning range 190~600 nm were adopted in experiment. Electropherogram of different roller pen inks' extracts were obtained. The problem of relative writing age was investigated from relative changes between different dyes in inks detected by PDA in visible wavelength.

[Key words] black roller pen inks; zone capillary electrophoresis; writin

### 《中国工程科学》2007 年第 9 卷第 3 期要目预告

论编制土地利用总体规划的动力周期  
和特性 ..... 李伯衡  
论食品安全学的理论基础与技术体系  
..... 魏益民等  
雅砻江普斯罗坝址深部裂缝带成因的  
探讨 ..... 李 等  
单边直线感应电机纵向边缘效应的研究  
..... 徐 伟等  
仿生农用杀菌剂银泰的研制与应用 ..... 孟昭礼等  
舌体水分含量测量仪的研究 ..... 贾贵玺等  
基于爆破源的大坝隐患探测新技术 ..... 周厚贵等  
两封闭弹性长方体连接结构的声辐  
射建模与分析 ..... 姚昊萍等

基于 Vague 集的系统安全综合评价 ..... 刘爱华等  
公共基础设施特许经营合约与风险治理研究  
——以南京长江隧道工程为例 ..... 钱 维等  
激光热应力切割玻璃实验与分析 ..... 殷苏民等  
广角均匀照明效果的灯具设计 ..... 顾 伟等  
布达拉宫古建筑的火灾风险分析 ..... 庄 磊等  
空调房间的空气品质及其控制研究 ..... 邹声华等  
基于 TMS320DM642 多媒体处理器的实时  
视频处理系统设计 ..... 赵 振等  
高原环境下吸气火灾探测器采样管道  
内部流动的研究 ..... 刘 勇等  
岩石冲击损伤演化规律数值流形方法  
模拟 ..... 刘红岩等