

司法 鉴 定 技 术 规 范

SF/Z JD0203005——2018

书写墨迹中 9 种染料的检测 液相色谱-高分辨质谱法

Identification of nine dyes in writing ink entries by LC-HRMS

2018-11-08 发布

2019-01-01 实施

中华人民共和国司法部公共法律服务管理局 发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	1
5 试剂、材料和仪器.....	1
6 检测步骤.....	2
7 结果评价.....	3
8 方法检出限.....	3
附录 A（资料性附录） 9 种染料的液相色谱-高分辨质谱分析参数.....	4
表 1 梯度洗脱程序.....	3

前 言

本技术规范按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本技术规范由司法鉴定科学研究院提出。

本技术规范由司法部公共法律服务管理局归口。

本技术规范起草单位：司法鉴定科学研究院。

本技术规范主要起草人：孙其然、张清华、罗仪文、王雅晨、杨旭、施少培、卞新伟、奚建华。

本技术规范附录A为资料性附录。

本技术规范为首次发布。

书写墨迹中 9 种染料的检测 液相色谱-高分辨质谱法

1 范围

本技术规范规定了应用液相色谱-高分辨质谱法检测书写墨迹中9种染料的试剂、材料、仪器、检测步骤、结果评价和方法检出限。9种染料为：结晶紫、甲基紫2B、碱性蓝7、维多利亚蓝B、维多利亚蓝R、乙基紫、酸性蓝1、酸性蓝9和酸性红52。

本技术规范适用于以染料为着色剂的蓝色和黑色圆珠笔、中性笔、水笔书写形成的墨迹中上述9种染料的定性分析，以及墨迹中染料成分的比对检验。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法
SF/Z JD0201008-2010	文件材料鉴定规范
GA/T 242	微量物证的理化检验术语

3 术语和定义

SF/Z 0201008-2010和GA/T 242中界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

结晶紫、甲基紫2B、碱性蓝7、维多利亚蓝B、维多利亚蓝R、乙基紫、酸性蓝1、酸性蓝9和酸性红52是蓝色和黑色书写墨水中的常用染料。墨迹中的染料经甲醇等溶剂提取后可用液相色谱-高分辨质谱仪进行检测。通过与染料对照品比较，以色谱峰的保留时间和特征离子的精确质量数进行定性。

5 试剂、材料和仪器

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（色谱纯）。

5.1.2 乙腈（色谱纯）。

5.1.3 乙酸铵（色谱纯）。

5.1.4 超纯水：由纯水系统制得，电阻率 18.2 MΩ·cm。

5.1.5 10 mmol/L 乙酸铵缓冲液：称取 0.771 g 乙酸铵，置于 1000 mL 容量瓶中，加水至刻度，摇匀备用。

5.1.6 50%甲醇溶液：用移液器分别移取等体积的甲醇和水，置于有盖离心管或具塞试剂瓶中，混匀备用。

5.1.7 酸性染料对照品储备溶液：分别称取酸性蓝 1、酸性蓝 9 和酸性红 52 对照品适量，用甲醇配成 1.0 mg/mL 混合对照品储备溶液，置于 4℃ 冰箱中保存，有效期 3 个月。

5.1.8 碱性染料对照品储备溶液：分别称取结晶紫、甲基紫 2B、碱性蓝 7、维多利亚蓝 B、维多利亚蓝 R 和乙基紫对照品适量，用甲醇配成 1.0 mg/mL 混合对照品储备溶液，置于 4℃ 冰箱中保存，有效期 3 个月。

注：本技术规范试验用水为一级水（见 GB/T 6682 规定）。

5.2 材料

5.2.1 0.5 mm 直径打孔器。

5.2.2 1.5 mL 有盖离心管。

5.2.3 具塞试剂瓶。

5.2.4 容量瓶。

5.3 仪器

5.3.1 液相色谱-高分辨质谱联用仪（LC-HRMS）：配有电喷雾离子源（ESI）。

5.3.2 精密移液器。

5.3.3 旋涡混合器。

5.3.4 振荡混匀仪。

5.3.5 分析天平：感量 0.1 mg。

6 检测步骤

6.1 样品提取

6.1.1 圆珠笔墨迹的提取：用打孔器从笔道上提取 1 片 0.5 mm 直径的墨迹样品，置于 1.5 mL 有盖离心管中，加入 100 μL 甲醇，在 25 °C 下振荡提取 20 分钟，移取上清液至样品瓶中待分析。平行制样 2 份。

6.1.2 水笔、中性笔墨迹的提取：用打孔器从笔道上提取 4 片 0.5 mm 直径的墨迹样品，置于 1.5 mL 有盖离心管中，加入 100 μL 50% 甲醇溶液，在 25 °C 下振荡提取 20 分钟，移取上清液至样品瓶中待分析。平行制样 2 份。

6.1.3 空白纸张的提取：在纸张空白处提取样品，根据墨迹种类，按 6.1.1 或 6.1.2 进行操作，制样 1 份。

6.1.4 对照品工作溶液：取酸性、碱性染料对照品储备溶液，用甲醇稀释成 100 ng/mL 待分析（即配即用）。

6.2 检测

6.2.1 液相色谱-高分辨质谱参考条件

液相色谱-高分辨质谱分析的参考条件如下：

- a) 液相色谱柱：Xbridge C18 柱（50 mm × 2.1 mm × 5 μm）或相当者，接保护柱；
- b) 流动相：10 mmol/L 乙酸铵-乙腈，25 °C 梯度洗脱，洗脱程序见表 1；

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	10 mmol/L 乙酸铵 (%)	乙腈 (%)
0	80	20
1	80	20
8	0	100
12	0	100

- c) 流速: 300 $\mu\text{L}/\text{min}$;
- d) 进样量: 5 μL ;
- e) 离子源参数: 正离子 (ESI+) : 电压 3.5 kV; 负离子 (ESI-) : 电压 3 kV。壳气、辅助加热气均使用高纯氮。辅助加热温度为 300 $^{\circ}\text{C}$, 毛细管喷针温度为 350 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 检测模式: 正、负离子同时监测, 全扫描模式, 分辨率 35000; ESI+扫描范围: m/z 100-800; ESI-扫描范围: m/z 100-900。

6.2.2 定性分析

6.2.2.1 将按照 6.1 处理的墨迹样品、空白纸张以及对照品工作溶液, 分别用液相色谱-高分辨质谱联用仪检测。按照 6.2.1 参考条件, 9 种染料对照品的保留时间、特征离子及其理论精确质量数见附录 A 中表 A.1。

6.2.2.2 在相同的试验条件下, 墨迹样品中出现的色谱峰保留时间与对照品工作溶液的色谱峰保留时间相比较, 相对误差在 $\pm 2\%$ 内, 且测得的精确质量数与理论值误差小于 5 ppm, 则可认为墨迹样品中检出对应的染料。

6.2.3 比对检验

6.2.3.1 若墨迹样品中检出的染料种类相同, 且各染料色谱峰的相对含量接近, 则可认为两个墨迹样品中检出的染料成分一致。

6.2.3.2 若墨迹样品中检出的染料种类不同, 或各染料色谱峰的相对含量有明显差异, 则可认为两个墨迹样品中的染料成分不同。

7 结果评价

若空白纸张为阴性结果, 且对照品工作溶液中各染料出峰正常, 则可认为分析结果可靠; 反之, 结果不可靠。

8 方法检出限

本技术规范中 9 种染料的检出限见附录 A 中表 A.1。

附 录 A
(资料性附录)

9 种染料的液相色谱-高分辨质谱分析参数

表A.1 9 种染料的液相色谱-高分辨质谱分析参数

化合物	CAS 号	分子式	保留时间 (min)	特征离子	精确质量数 (理论值) (m/z)	最低检出限 (ng/mL)
酸性蓝 9 (Acid blue 9)	3844-45-9	$C_{37}H_{34}N_2O_9S_3Na_2$	3.26	$[M-2Na]^{2-}$	373.0708	10
酸性蓝 1 (Acid blue 1)	129-17-9	$C_{27}H_{31}N_2O_6S_2Na$	3.91	$[M-Na]^-$	543.1618	5
酸性红 52 (Acid red 52)	3520-42-1	$C_{27}H_{29}N_2O_7S_2Na$	4.08	$[M-Na]^-$	557.1411	2
甲基紫 2B (Methyl violet 2B)	8004-87-3	$C_{24}H_{28}N_3Cl$	5.97	$[M-Cl]^+$	358.2278	2
结晶紫 (Crystal violet)	548-62-9	$C_{25}H_{30}N_3Cl$	6.28	$[M-Cl]^+$	372.2434	1
维多利亚蓝 R (Victoria blue R)	2185-86-6	$C_{29}H_{32}N_3Cl$	6.66	$[M-Cl]^+$	422.2591	1
维多利亚蓝 B (Victoria blue B)	2580-56-5	$C_{33}H_{32}N_3Cl$	6.92	$[M-Cl]^+$	470.2591	5
碱性蓝 7 (Basic blue 7)	2390-60-5	$C_{33}H_{40}N_3Cl$	7.81	$[M-Cl]^+$	478.3217	1
乙基紫 (Ethyl violet)	2390-59-2	$C_{31}H_{42}N_3Cl$	8.19	$[M-Cl]^+$	456.3373	1