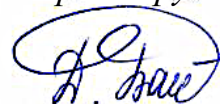


МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи



БАЙГИЛЬДИЕВА ДИЛАРА ИРШАТОВНА

**ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТАВА
РУКОПИСНЫХ ШТРИХОВ ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ И
ИСКУССТВЕННОМ СТАРЕНИИ БУМАЖНЫХ ДОКУМЕНТОВ**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2019

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель

Родин Игорь Александрович

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник

Официальные оппоненты

Савельева Елена Игоревна

доктор химических наук, заведующая лабораторией аналитической токсикологии ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России

Яшкин Сергей Николаевич

доктор химических наук, доцент кафедры аналитической и физической химии Химико-технологического факультета ФГБОУ ВО «СамГТУ»

Борисов Роман Сергеевич

кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки ордена Трудового Красного Знамени «Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук» (ИНХС РАН)

Защита диссертации состоится 18 сентября 2019 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.02.05 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, аудитория 446.

E-mail: dissovet02.00.02@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова, Ломоносовский просп., д. 27 и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/198067738/>

Автореферат разослан 27 июня 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Ананьева И.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. На сегодняшний день цифровая передача данных является наиболее популярным средством обмена информацией. Тем не менее, рукописные записи, выполненные на бумаге, по-прежнему остаются предпочтительным типом документов, гарантирующим акт совершения сделки. Большое количество транзакций может выполняться в цифровом виде, но во многих случаях для подтверждения согласия требуется рукописная подпись. В связи с этим, мошенничество, связанное с подделкой документов, далеко не редкость, а исследования рукописных записей представляют собой обширную область в криминалистическом исследовании.

Экспертиза срока давности документа заключается в установлении даты выполнения рукописных записей (в том числе подписей), оттисков печати на бумаге и является одной из самых сложных и спорных задач среди судебных экспертиз. В основном, данный факт связан с большим разнообразием чернил, которые существуют на рынке, а также сложностью химических процессов, которые протекают в штрихах чернил с момента их нанесения на бумагу. Многое зависит и от внешних факторов, которые могут повлиять на процесс старения документа в целом, а также на деградацию красителей.

По этой причине значительные исследовательские усилия были направлены на разработку способов установления возраста чернил, которые, как правило, основаны на старении красителей или улетучивании (испарении) растворителей чернил.

После нанесения на бумагу чернила подвергаются различным физическим и химическим превращениям. Эти изменения определяются несколькими факторами, включая их исходный состав и концентрации соединений, температуру хранения, уровни освещенности, химические и механические свойства бумаги. Кроме того, растворители после нанесения чернил на бумагу могут испаряться, красители – деградировать. Деградация красителей – процесс химической трансформации молекул, составляющих данный краситель. Изучение превращения чернил может основываться на различных временных интервалах этих процессов, вплоть до того момента, когда чернила перестают быть активными и не претерпевают дальнейших изменений. Этот момент может варьироваться от нескольких месяцев до нескольких лет после нанесения. Наиболее распространенным средством письма являются

шариковые ручки, поэтому исследования в основном направлены на изучение красителей и растворителей, входящих в состав паст шариковых ручек.

На сегодняшний день общепринятых методик определения возраста документа не существует, что затрудняет работу судебных экспертов. В связи с этим насущной проблемой является разработка способов установления даты составления документа. Одной из основных возникающих проблем при установлении срока давности документа является необходимость его датирования либо путем определения абсолютного времени нанесения чернил на бумагу, либо путем сравнения времени нанесения двух реквизитов документа друг относительно друга. В настоящее время, существуют только частичные решения данной задачи, что связано с большим числом влияющих факторов, вовлеченных в процесс старения чернил [1–2]. Одним из подходов является установление корреляционной зависимости изменения содержания красителей, входящих в состав чернил шариковых ручек и нанесенных на бумагу, от времени их нанесения. В судебной практике нередко сталкиваются с проблемой фальсификации документа путем его искусственного состаривания длительным воздействием на него повышенных температур с использованием бытовых нагревательных приборов (духовой шкаф, утюг), микроволнового излучения с использованием бытовой микроволновой печи и ультрафиолетовым излучением с использованием ультрафиолетовой лампы для маникюрных целей.

В этой связи актуальной представляется разработка подходов выявления фактов фальсификации при помощи современных физико-химических методов. Для обнаружения красителей в чернилах шариковых ручек, нанесенных на бумагу, требуется чувствительная и селективная аналитическая аппаратура. Газовую хроматографию с масс-спектрометрическими детекторами (ГХ-МС), а также высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектором чаще других используют для анализа растворителей и красителей, соответственно. Кроме того, спектроскопические методы, такие как инфракрасная спектроскопия (ИК) и Рамановская спектроскопия (КР), также нашли свое применение для исследования времени нанесения штрихов на бумагу. Однако задача установления корреляционных зависимостей изменения содержания красителей на бумаге от времени их нанесения методом

высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием ранее не была решена.

Цель работы состояла в разработке способов идентификации красителей штрихов паст шариковых ручек, выявлении продуктов их деградации и установлении степени деградации красителей с использованием методов хромато-масс-спектрометрии.

Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих задач:

1. Выбор способа определения характерных компонентов/красителей образцов исследуемых паст шариковых ручек, обеспечивающего удаление мешающего влияния компонентов бумаги.
2. Разработка способов выявления красителей, входящих в состав паст шариковых ручек, и продуктов их деградации методами ВЭЖХ-ДМД, ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС высокого разрешения с ионизацией электрораспылением.
3. Создание модельной базы штрихов различных шариковых ручек, нанесенных в течение 5 лет, для изучения деградации красителей в условиях естественного старения.
4. Применение метода ВЭЖХ-МС для изучения кинетики деградации красителей при ускоренном старении рукописного штриха пасты шариковой ручки под воздействием повышенных температур и ультрафиолетового излучения.
5. Изучение деградации красителей паст шариковых ручек, состаренных в естественных условиях и сравнение с результатами, полученными в условиях искусственного старения.

Научная новизна.

Предложен способ получения масс-спектров образцов экстрактов штрихов шариковых ручек с помощью метода прямого ввода анализируемой пробы в масс-спектрометрический детектор в потоке подвижной фазы. Метод позволяет учитывать мешающее влияние компонентов бумаги путем вычитания масс-спектров экстрактов образцов бумаги.

Идентифицирован ряд красителей в штрихах чернил шариковых ручек при помощи методов ВЭЖХ-ДМД и ВЭЖХ-МС/МС низкого и высокого разрешения. Получены профили красителей и проведена классификация исследуемых паст шариковых ручек на 3 группы в соответствии с набором красителей, входящих в их

состав. Установлена возможность дифференциации паст разных групп, в том числе и по виду масс-спектра.

Проведено исследование процессов искусственного старения идентифицированных красителей при воздействии на штрихи повышенных температур и УФ-излучения методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. Выявлены кинетические характеристики процессов деградации красителей.

Проведено сравнения деградации красителей в искусственных и естественных условиях. Доказано, что деградация красителей в условиях естественного старения не может быть смоделирована в условиях искусственного старения.

Показана возможность выявления фальсифицированных документов, полученных путем искусственного старения, с помощью методов математической обработки сырых данных.

Практическая значимость. Предложен простой и экспрессный способ получения масс-спектров экстрактов рукописных штрихов шариковых ручек, нанесенных на бумагу, с помощью прямого ввода экстракта в масс-спектрометрический детектор в потоке подвижной фазы. Применение метода прямого ввода в потоке подвижной фазы позволило получить масс-спектры экстрактов рукописных штрихов, не содержащие в себе мешающие сигналы компонентов бумаги. Полученные масс-спектры позволяют сделать вывод об основных красителях, содержащихся в штрихах, а также дифференцировать ручки между собой.

Разработан ВЭЖХ-ДМД-МС способ, позволяющий получать профили красителей штрихов паст шариковых ручек с дальнейшим подтверждением их структуры методом масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением.

Применен метод ВЭЖХ-МС с ионизацией электрораспылением для изучения кинетики деградации красителей, состаренных в естественных и искусственных условиях.

Разработан способ выявления подложных образцов рукописных штрихов шариковых ручек, искусственно состаренных под действием УФ-излучения и термического воздействия.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты применения метода прямого ввода в масс-спектрометр в потоке подвижной фазы для получения масс-спектров экстрактов штрихов шариковых ручек, не содержащих мешающие сигналы компонентов бумаги.
2. Хромато-масс-спектрометрические условия получения профилей красителей штрихов паст шариковых ручек и результаты подтверждения их структуры при помощи метода масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением.
3. Результаты изучения кинетики деградации красителей штрихов шариковых ручек, состаренных в искусственных и естественных условиях.
4. Подход к выявлению фальсифицированных образцов рукописных штрихов шариковых ручек по характеристичным соотношениям пиков красителей и их соответствующих продуктов деградации, а также с помощью методов математической статистики.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на международном симпозиуме «32nd International Symposium on Chromatography» (ISC 2018, Канны-Мандельё, Франция), V Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (2018, Краснодар, Россия), VII Всероссийском симпозиуме «Кинетика и динамика обменных процессов» роль хроматографии в Separation Science (2018, Сочи, Россия), международной конференции «XI International Mass Spectrometry Conference on Petrochemistry, Environmental and Food Chemistry» (Petromass, 2018, Блед, Словения), международном симпозиуме «23rd International Symposium on Separation Sciences» (ISSS 2017, Вена, Австрия), III Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (2017, Краснодар, Россия), VII Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (2017, Москва, Россия), международном симпозиуме 10th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods (2015, Шиофок, Венгрия).

Личный вклад автора состоял в общей постановке задач, систематизации литературных данных, подготовке и проведении всех экспериментальных этапов исследования, обработке, интерпретации и оформлении полученных

экспериментальных данных, подготовке материалов к публикации и представлении полученных результатов на конференциях. Все исследования, описанные в работе, выполнены лично автором или в сотрудничестве с коллегами.

Степень достоверности. Достоверность результатов обеспечена использованием комплекса современных инструментальных физико-химических методов анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием, высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения и высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием), а также использованием методов математической обработки сырых данных, полученных методом ВЭЖХ-МС.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ: 3 статьи в научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI, изданиях из перечня, рекомендованных Минобрнауки РФ, и 8 тезисов докладов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, главы обсуждения результатов, заключения и списка цитируемой литературы, изложена на 132 страницах машинописного текста и включает 72 рисунка, 14 таблиц и список цитируемой литературы из 125 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель исследования и поставленные задачи, показаны научная новизна работы и ее практическая значимость.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В первой главе рассмотрены состав паст шариковых ручек и возможные происходящие процессы старения компонентов паст с течением времени, знание которых позволяет правильно подойти к выбору метода анализа. Рассмотрены и систематизированы способы анализа компонентного состава паст шариковых ручек, а также существующие подходы, позволяющие проводить оценку давности нанесения рукописного штриха на бумагу.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Во второй главе перечислены оборудование, реагенты и материалы, использованные в работе, а также описаны схемы (методики) экспериментов.

В работе использовали следующее аналитическое оборудование:

- ВЭЖХ-МС систему, состоящую из гибридного tandemного квадрупольного масс-спектрометрического детектора ABSciex Qtrap 3200 (Канада) с линейной ионной ловушкой, оснащенного источником электрораспылительной ионизации, и жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 (США). Регистрацию хроматограмм и обработку данных проводили при помощи программного обеспечения Analyst 1.5.1 (Канада).
- Гибридный жидкостный хромото-масс-спектрометр LCMS-IT-TOF, включающий квадрупольную ионную ловушку и времяпролетный масс-анализатор высокого разрешения с рефлектроном (Shimadzu, Япония).

Разделение проводили на следующей хроматографической колонке:

- Acclaim RSLC C₁₈ 120 Å (150 × 2.1 мм), диаметр зерна сорбента 2.2 мкм (Dionex, США);
- Предколонка Security Guard C₁₈ (Phenomenex, США).

В качестве объектов исследования были выбраны шариковые ручки разных производителей из разных стран, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Список использованных для исследования шариковых ручек

№	Марка	Цвет	Страна-производитель
1	Corvina 51	Синий	Италия
2	Beifa AA 927	Синий	Китай
3	BIC Cristal	Синий	Франция
4	BIC Original	Синий	Франция
5	BIC Original	Черный	Франция
6	BIC Original	Зеленый	Франция
7	BIC Original	Красный	Франция
8	Pilot BPS-GP-F-L	Синий	Япония
9	Attache Dali	Синий	Россия
10	Attache Happy	Синий	Россия
11	Attache Classic	Синий	Россия
12	Erich Krause U-11	Синий	Германия
13	Erich Krause U-18	Синий	Германия
14	Cello SLIMO	Синий	Индия
15	Faber Castell	Синий	Германия
16	Pelikan	Синий	Германия
17	Pentel	Синий	Япония
18	Orient	Синий	Венгрия
19	Schneider Tops 505 F	Синий	Германия
20	Stabilo Liner 808 F	Синий	Германия

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Третья глава диссертационной работы посвящена разработке способа установления характеристичного набора ионов образцов штрихов, выполненных пастами шариковых ручек при помощи метода прямого ввода анализируемой пробы в масс-спектрометрический детектор в потоке подвижной фазы; разработке способа хромато-масс-спектрометрического определения красителей, извлеченных из штрихов паст шариковых ручек; а также изучению кинетики деградации красителей при воздействии на рукописные штрихи повышенных температур и УФ-излучения и

выявлению фактов фальсификации документов при помощи методов статистической обработки данных.

В разделе «*Определение характерного набора ионов образцов паст шариковых ручек методом прямого ввода в поток*» рассмотрен способ определения характеристичного набора ионов, позволяющего проводить классификацию паст шариковых ручек различных марок и производителей, с помощью метода прямого ввода анализируемой пробы в масс-анализатор в потоке подвижной фазы. Данный способ позволяет регистрировать в ходе одного эксперимента как экстракты исследуемых образцов штрихов паст шариковых ручек, так и экстракты чистой бумаги (Рис. 1).

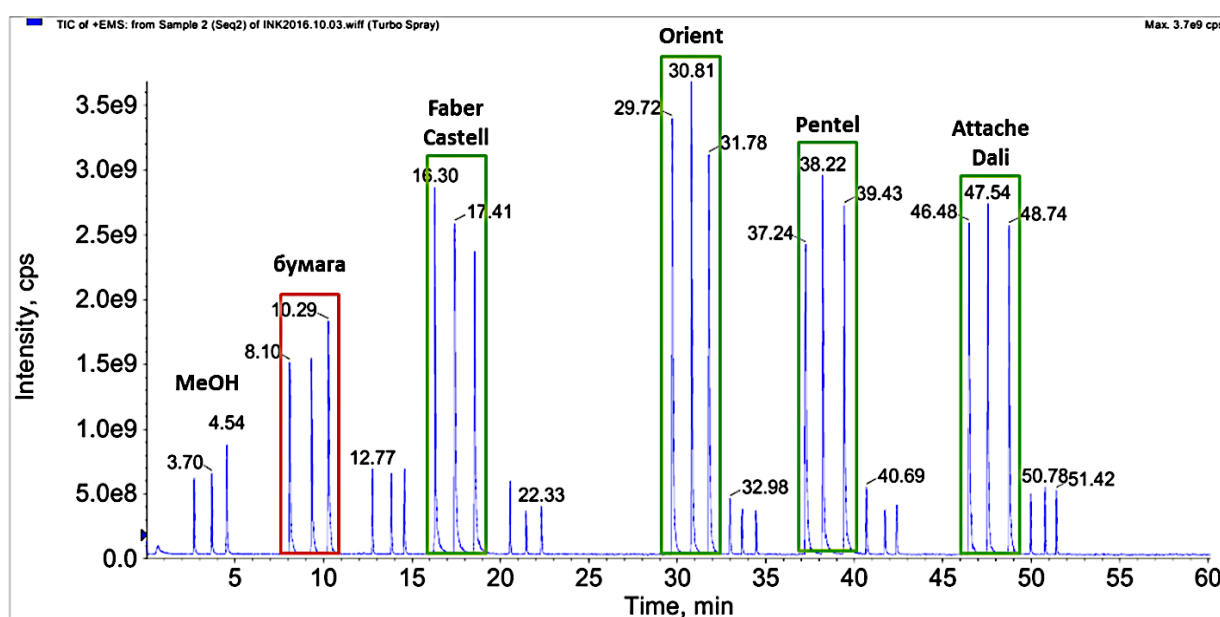
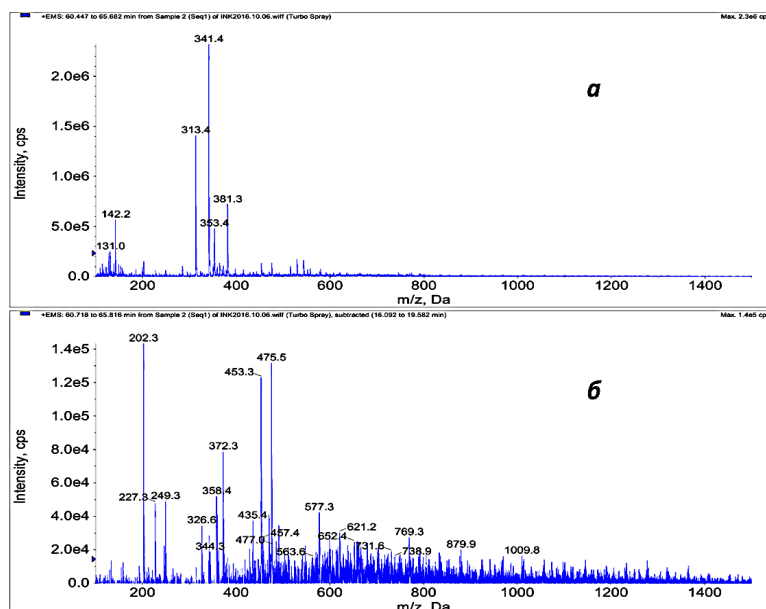


Рис. 1. Общий вид полного ионного тока, полученного методом прямого ввода в поток. Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.1% водный раствор муравьиной кислоты (70:30).

Преимуществом данного подхода является возможность сравнивать и вычитать масс-спектры экстракта бумаги и масс-спектры экстрактов штрихов образцов, и таким образом выявлять сигналы ионов, относящихся к пастам ручек.

На рисунке 2 представлены масс-спектры экстракта штриха ручки *Cello SLIMO* до (а) и после (б) вычитания масс-спектра экстракта бумаги. Видно, что даже наиболее интенсивные после вычитания масс-спектра экстракта бумаги ионы до вычитания регистрируются с интенсивностью на уровне шумовых ионов. В необработанном масс-спектре (а) сигналы ионов со значениями m/z 313, 341 и 381, соответствующие компонентам бумаги, имеют наибольшую интенсивность, в то время как сигналы ионов, соответствующие компонентам пасты, имеют

незначительную интенсивность. В обработанном масс-спектре (б) сигналы целевых компонентов (например, ионов со значениями m/z 358 и 372, идентифицированных впоследствии как красители Метилловый фиолетовый (MV) и Кристаллический фиолетовый (CV), соответственно) имеют бóльшую относительную интенсивность и отчетливо различимы.



отчетливо различимы.

Таким образом, метод прямого ввода в поток позволяет получать масс-спектры для каждого из исследуемых образцов паст шариковых ручек без мешающих сигналов компонентов бумаги.

Рис. 2. Масс-спектры экстракта пасты ручки *Cello SLIMO* до (а) и после (б) вычитания масс-спектра экстракта бумаги.

В разделе «Идентификация красителей паст шариковых ручек методами ВЭЖХ-ДМД, ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС высокого разрешения» описан способ идентификации красителей, входящих в состав паст шариковых ручек и извлеченных из рукописного штриха, методом ВЭЖХ с одновременным спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием, а также способ подтверждения идентифицированных красителей методом масс-спектрометрии высокого разрешения на ВЭЖХ-МС системе Shimadzu LCMS-IT-TOF с ионизацией электрораспылением.

Сведения о молекулярной массе вещества в сочетании с информацией, получаемой из электронных спектров поглощения, позволяет достаточно надежно идентифицировать анализируемые соединения в соответствии с данными из литературных источников. В таблице 2 приведены описанные в литературе характеристики триарилметановых красителей синего цвета.

Таблица 2. Характеристики красителей синего цвета

Название	Аббревиатура	m/z иона	$\lambda_{\max}$, нм
Тетраметилпарарозанилин	MV2B	344	574
Метилловый фиолетовый	MV	358	584

Название	Аббревиатура	m/z иона	$\lambda_{\max}$, нм
Кристаллический фиолетовый	CV	372	590
Виктория синий R	VbR	422	610
Этиловый фиолетовый	EtV	456	596
Виктория синий В	VbB	470	612
Виктория синий ВО	VbBO	478	618
Виктория синий 4R	VB4R	484	591

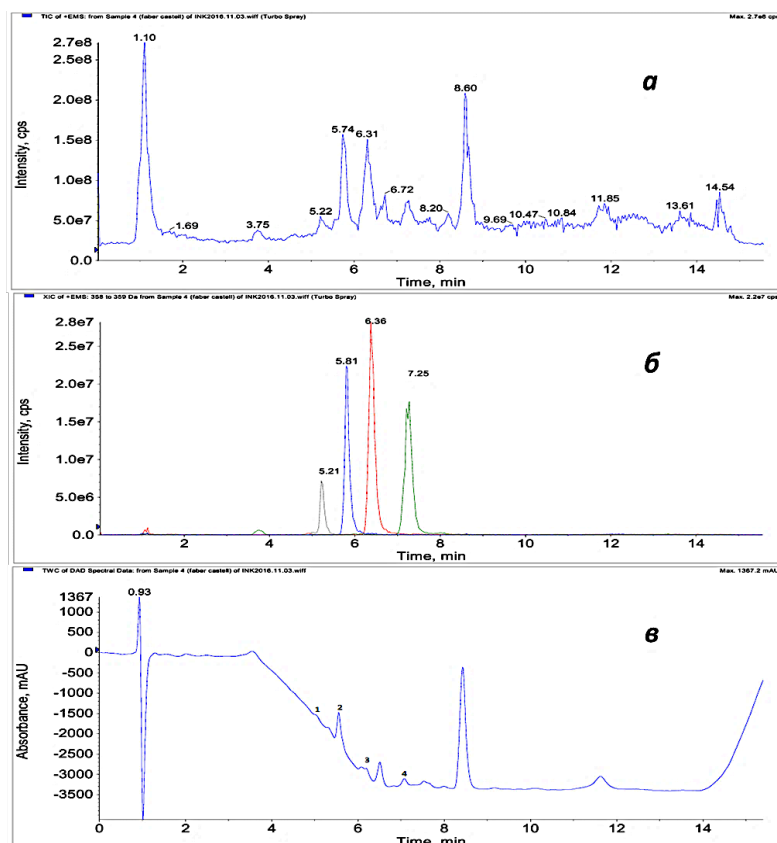


Рис. 3. Хроматограммы экстракта штриха ручки *Corvina*: (а) по полному ионному току; (б) реконструированная хроматограмма по выделенным ионам (m/z : 344 (5.21 мин), 358 (5.81 мин), 372 (6.36 мин), 470 (7.25 мин)); (в) по суммарной оптической плотности ($\lambda_{\max}$, нм: 1—574,2 — 584, 3 — 589, 4 — 612). Режим элюирования: градиентный от 40 % до 80 % Б (А — 0.1% HCOOH, Б — MeCN).

При помощи встроенного программного обеспечения (Shimadzu Formula Predictor) на основе точной массы, а также изотопной картины для данного иона была предложена брутто-формула составом $C_{33}H_{32}N_3$, которая, согласно литературным данным, а также данным по длинам волн поглощения, полученным с помощью диодно-матричного детектора, соответствует красителю Виктория синяя В. Аналогичным образом были идентифицированы брутто-формулы и структуры остальных наиболее часто встречающихся красителей. Подтверждение структуры

На рисунке 3 представлены масс-хроматограммы экстракта штриха ручки *Corvina* по полному ионному току и по выделенным ионам, а также хроматограмма, полученная диодно-матричным детектором. Для ионов со значениями m/z 334, 358, 372 и 470 (б), обнаруженных методом прямого ввода потока, соотнесены пики на хроматограммах (а) и (в).

исследуемых соединений проводили при помощи спектров МС/МС фрагментации. Согласно полученным масс-спектрам, в процессе фрагментации ионов-предшественников предполагаемых красителей в ячейке соударений масс-спектрометра образуются ионы-продукты за счет последовательного отщепления молекул метана от третичных атомов азота с образованием двойной связи. Совокупность точных значений m/z , λ_{max} , а также МС/МС-спектров фрагментации позволили идентифицировать исследуемые соединения как соответствующие красители.

Таблица 3 содержит сведения о красителях, входящих в состав исследуемых паст. Всю выборку ручек можно разделить на 3 группы в соответствии с набором красителей.

Таблица 3. Классификация паст шариковых ручек в соответствии с набором красителей

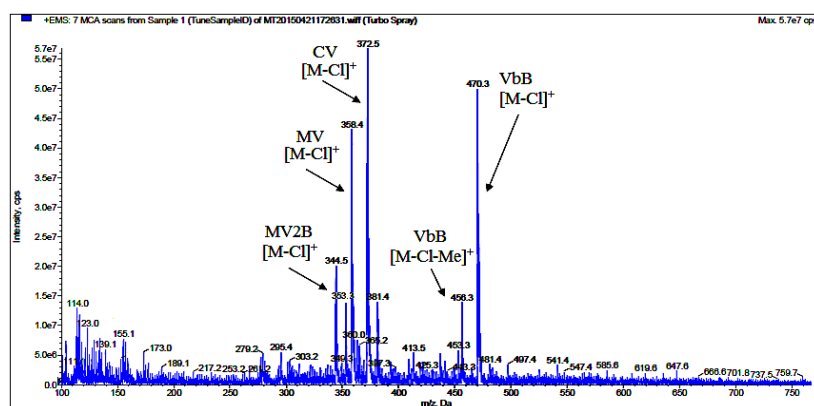
Марка шариковой ручки	Красители			
	Метиловый фиолетовый	Кристаллический фиолетовый	Виктория синий В	Виктория синий ВО
BIC Original	+	+	-	-
BIC Cristal	+	+	-	-
Erich Krause U-11	+	+	-	-
Erich Krause U-18	+	+	-	-
Attache Dali	+	+	+	-
Attache Classic	+	+	+	-
Attache Happy	+	+	+	-
Corvina	+	+	+	-
Stabilo Liner	+	+	+	-
Pelikan	+	+	+	-
Pentel	+	+	+	-
Orient	+	+	+	-
Faber Castell	+	+	+	-
Schneider	+	+	+	-
Cello SLIMO	+	+	+	-
Pilot	+	+	-	+

Во всех образцах идентифицирован краситель CV (m/z 372) и его деметилированные гомологи: MV (m/z 358) и MV2B (m/z 344). Краситель VbB (m/z 470) по аналогии образует деметилированные аналоги со значениями m/z 456 и 442, один из которых (m/z 456), согласно литературным данным, является красителем

EtV. Для образца ручки *Pilot* идентифицирован краситель VbBO (m/z 478) и его деэтилированный аналог (m/z 450).

В разделе «Подбор условий масс-спектрометрического детектирования красителей паст шариковых ручек» описан выбор условий масс-спектрометрического детектирования идентифицированных в пункте 3.2 диссертационной работы красителей, извлеченных из штрихов паст шариковых ручек.

Как видно из рисунка 4 и согласно литературным данным, в масс-спектре прямого ввода экстракта пасты ручки *Pilot* в режиме регистрации положительно



заряженных ионов все интенсивные пики относятся красителям (CV, MV, MV2B, VbB). Пики с m/z 381 и 353 присутствуют в масс-спектрах экстрактов всех образцов, т.к. относятся к компонентам бумаги.

Рис. 4. Масс-спектр прямого ввода экстракта пасты ручки *Pilot* в режиме регистрации положительно заряженных ионов.

В разделе «Подбор условий пробоподготовки и хроматографического разделения красителей паст шариковых ручек» описан выбор экстрагирующего растворителя на стадии пробоподготовки и условий хроматографического разделения смеси идентифицированных красителей в условиях обращенно-фазовой жидкостной хроматографии с последующим масс-спектрометрическим детектированием.

Выбор экстрагирующего растворителя. При анализе окрашенных соединений с помощью ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием на стадию пробоподготовки накладываются определенные ограничения. Необходимым условием при выборе экстрагирующего растворителя является его прозрачность в видимом диапазоне волн, так как в этой области поглощают исследуемые красители. Для данной цели использовали образцы штрихов ручек *BIC* (красная), *Corvina* и *Pilot*, нанесенные на бумагу таким образом, чтобы в одном образце содержались сразу все определяемые красители (AuO, MV2B, MV, CV, BR, VbB, VbBO). Апробированы 5

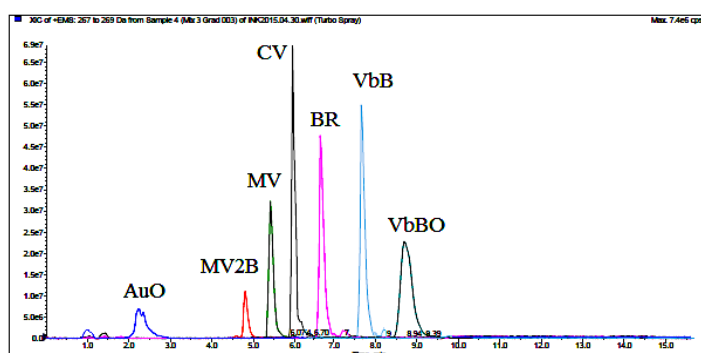
разных экстрагирующих систем: 100% ацетонитрил; 100% метанол; 100% деионизованная вода; 50/50 ацетонитрил/деионизованная вода; 50/50 метанол/деионизованная вода.

Вода оказалась слабым экстрагирующим агентом — низкая интенсивность и плохая форма пиков. Наилучшие экстрагирующие свойства проявили 100% ацетонитрил и 100% метанол, причем в случае метанола наблюдалась большая интенсивность и лучшая форма пиков. Поэтому в качестве экстрагирующего агента был выбран метанол.

Выбор подвижной фазы. В качестве водной составляющей подвижной фазы применяли водные растворы уксусной и муравьиной кислот (0.05%, 0.1%, 0.2% и 0.5% по объему), а также ацетата аммония (5 мМ, 10 мМ, 15 мМ и 20 мМ). Согласно полученным данным, в качестве водной подвижной фазы выбран 0.1% раствор муравьиной кислоты в связи с наибольшим значением интенсивностей сигналов красителей и их приемлемым удерживанием.

Выбор условий режима элюирования. В изократическом режиме элюирования 10/90 А/Б (А — 0.1% НСООН, Б — MeCN) пики красителей с отношениями массы к заряду m/z 358 и 443 (Метилловый фиолетовый и Основной красный 1) сливаются в один. Чтобы добиться хорошего разрешения всех растворителей варьировали условия градиентного элюирования.

На рисунке 5 представлена хроматограмма экстракта с нанесенными на одной бумажке штрихами ручек *BIC* (красная), *Corvina* и *Pilot*. После многочисленных вариаций с условиями градиента выбран режим, при котором получили хорошее



разрешение. Использовали следующую программу градиентного элюирования: 0–1.5 мин 40% Б; 1.5–4.5 мин 40–70% Б; 4.5–12.5 мин 70% Б; 12.5–13.5 мин 70–40% Б; 13.5–15.5 мин 40% Б.

Рис. 5. Хроматограмма идентифицированных красителей из экстракта с нанесенными на бумаге штрихами ручек *BIC* (красная), *Corvina* и *Pilot* в режиме градиентного элюирования.

В разделах «Изучение кинетики деградации красителей при искусственном старении рукописного штриха под воздействием УФ-излучения», «Изучение кинетики деградации красителей при искусственном старении рукописного штриха

под воздействием повышенных температур», «Изучение кинетики деградации красителей при естественном старении рукописного штриха» рассмотрены способы определения продуктов деградации красителей, образованных при ускоренном старении рукописного штриха под воздействием повышенных температур, ультрафиолетового излучения, а также при хранении образцов рукописных штрихов в условиях естественного старения.

Для исследования изменений, происходящих с идентифицированными красителями в условиях искусственного старения, образцы штрихов выбранных ручек (*BIC Original*, *Corvina* и *Pilot*) подвергали воздействию УФ-излучения и влиянию повышенных температур. Для реализации процессов искусственного старения под воздействием УФ-излучения бумагу с нанесенными различными ручками линиями помещали в камеру облучателя, оснащенного ультрафиолетовой лампой с длиной волны 365 нм, и через фиксированные промежутки времени (0, 6, 18, 30, 66, 90, 121 и 147 ч) из бумаги вырезали полоски, содержащие линии штрихов. Для реализации процессов искусственного старения под воздействием повышенных температур бумагу с нанесенными различными ручками линиями помещали в сушильный шкаф при температурах 100°C, 130°C и 150°C в течение выбранных периодов времени от 0 ч (соответствует свеженанесенным образцам) до 36 ч и через фиксированные промежутки времени из бумаги вырезали полоски, содержащие линии штрихов. Таким образом, изучали корреляцию между процессами деградации красителей и временем искусственного воздействия.

Метод прямого ввода в потоке использовали для выявления изменений в составе паст после того, как штрихи подвергались ускоренному старению. Для этого проводили сравнение масс-спектров экстрактов паст ручек до и после воздействия, полученных после вычитания соответствующих масс-спектров экстрактов бумаги. Различие масс-спектров экстрактов бумаги до и после искусственного воздействия указывает на изменение ее компонентного состава (Рис. 6).

На рисунке 7 представлены масс-спектры экстрактов штрихов ручки *Corvina* до (а) и после (б) УФ-облучения в течение 147 часов.

Согласно данным из литературных источников, появление в спектре (Рис. 7б) ионов со значениями m/z 456 и 442 может быть обусловлено протеканием процессов

деградации красителя VbB (m/z 470) с образованием соответствующих деметилированных продуктов.

В масс-спектрах экстрактов искусственно состаренных образцов штрихов паст всех исследуемых ручек (*BIC Original*, *Corvina* и *Pilot*) наблюдаются интенсивные сигналы ионов со значениями m/z 358 и 344, а также сигнал иона со значением m/z 330, которые могут принадлежать продуктам последовательного деметилирования красителя CV (m/z 372).

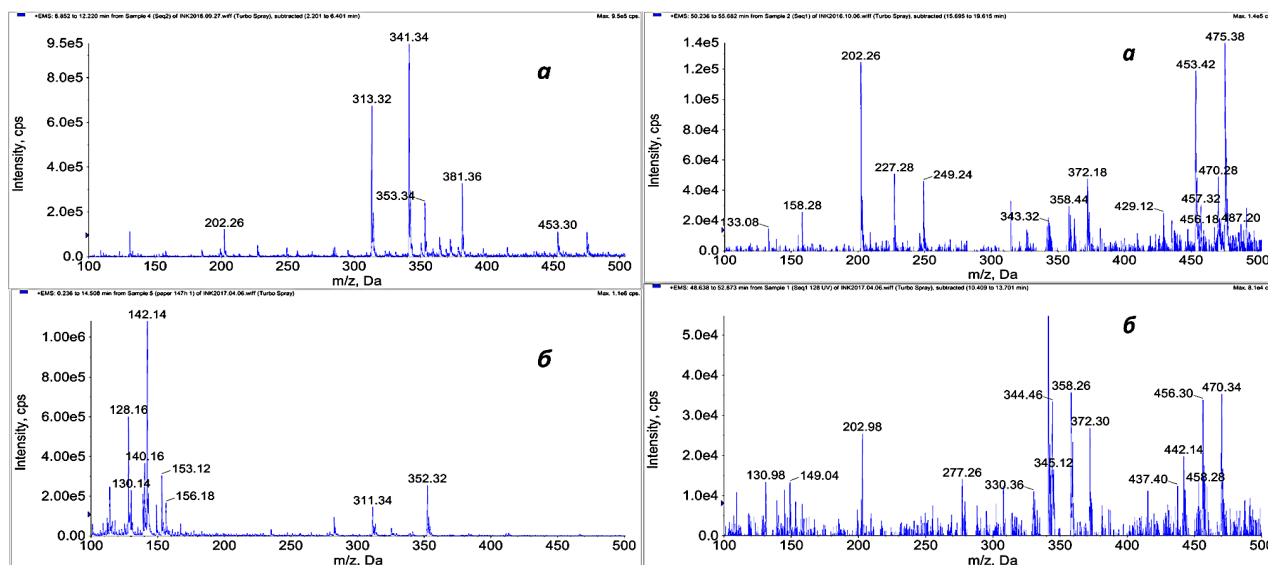


Рис. 6. Масс-спектры экстрактов бумаги до (а) и после (б) воздействия УФ-излучения в течение 147 часов.

Рис. 7. Масс-спектры экстрактов пасты ручки *Corvina* до (а) и после (б) воздействия УФ-излучения в течение 147 часов после вычитания соответствующих масс-спектров экстрактов бумаги.

С помощью метода ВЭЖХ-МС следили за изменением относительного содержания красителей и их продуктов деградации. На рисунке 8 представлены реконструированные хроматограммы по выделенным ионам m/z 344, 358 и 372 образцов штрихов ручки *Corvina*: свеженанесенного (а) и после термического воздействия при температурах 100°C (б), 130°C (в) и 150°C (г) в течение 30 часов.

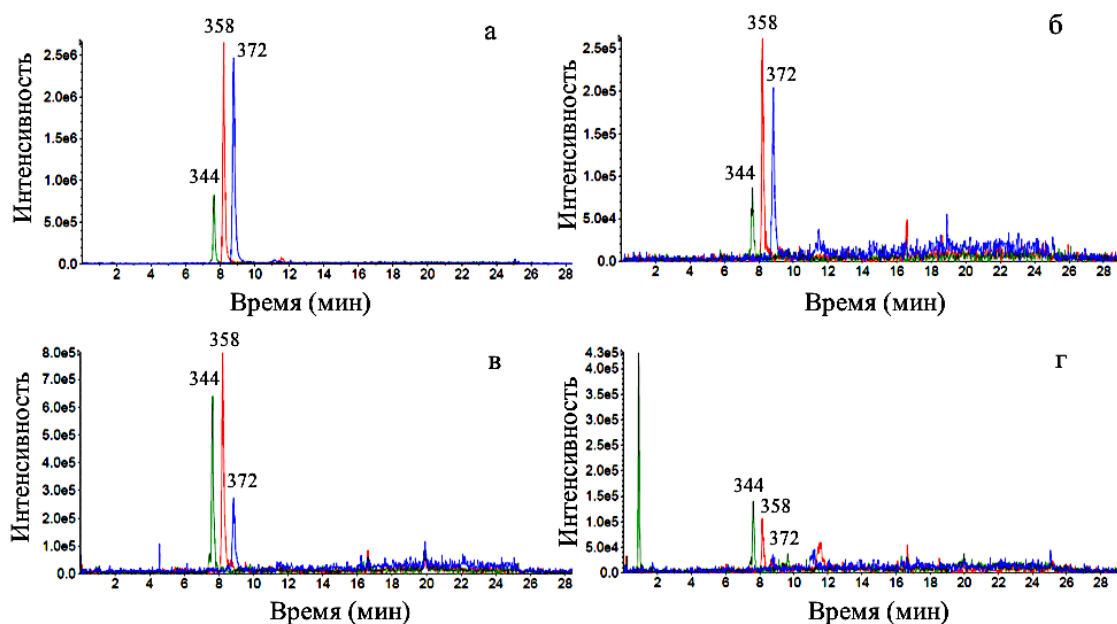


Рис. 8. Хроматограммы по выделенным ионам (m/z 344, 358 и 372) экстрактов штрихов пасты ручки *Corvina 51*: свеженанесенный (а) и после термического воздействия при температурах: 100°C (б), 130°C (в) и 150°C (г) в течение 30 часов.

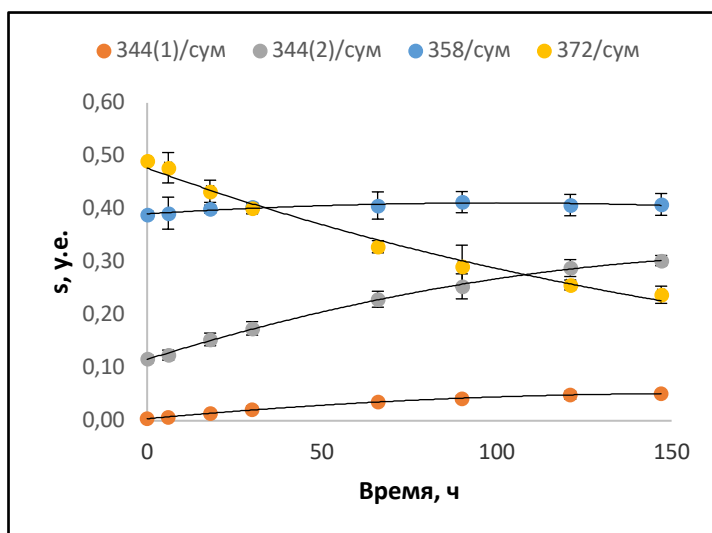
Соотношение содержаний красителя CV (m/z 372) и деметилированных гомологов (m/z 358 и 344) заметно изменилось после температурного воздействия. Аналогичного рода зависимости наблюдаются для красителей VbB (ручка *Corvina*) и VbBO (ручка *Pilot*) и их продуктов деградации, а также в случае воздействия УФ-излучением.

Зависимость соотношений содержаний продуктов деградации и основного красителя от времени искусственного воздействия могут быть описаны возрастающими функциями. Для характеристики процессов старения рассчитывали значения относительных площадей пиков красителей и их продуктов деградации по формуле:

$$s_i = \frac{S_i}{S_{\text{общ}}},$$

где S_i — площадь пика сигнала i -го иона (со значением m/z i), $S_{\text{общ}}$ — сумма площадей пиков сигналов иона красителя и продуктов его деградации. Такие соотношения характеризуют степень деградации красителей CV (m/z 372), VbB (m/z 470) и VbBO (m/z 478), соответственно. Рассчитав такие соотношения в различные моменты времени, можно построить зависимости степени превращения компонентов с течением времени.

На рисунке 9 в качестве примера представлены зависимости значений



относительных площадей пиков красителей и соответствующих продуктов деградации от времени воздействия УФ-излучения на штрихи пасты ручки *BIC*. Значения точек построения соответствуют среднему между тремя значениями, полученных в результате серии параллельных измерений.

Рис. 9. Кривые искусственного старения красителя CV в пасте ручки *BIC Original* при воздействии УФ-излучения.

Кривые деградации красителей во всех случаях хорошо описываются экспоненциальной функцией вида:

$$s_i = s_{i0} \cdot e^{-kt},$$

где t – время воздействия УФ-излучения, s_{i0} и k – константы.

В таблице 4 приведены рассчитанные значения полученных параметров уравнений для каждого из красителей, содержащихся в анализируемых ручках.

Таблица 4. Параметры уравнений, описывающие тенденцию деградации красителей при воздействии на штрихи излучения при длине волны $\lambda = 365$ нм

	<i>BIC</i>	<i>Corvina</i>		<i>Pilot</i>	
	<i>CV</i> (372)	<i>CV</i> (372)	<i>VbB</i> (470)	<i>CV</i> (372)	<i>VbBO</i> (478)
s_{i0}	0.4811	0.4777	0.8032	0.3783	0.963
k	0.005	0.005	0.005	0.002	0.002
R^2	0.9853	0.9865	0.9985	0.9190	0.9875

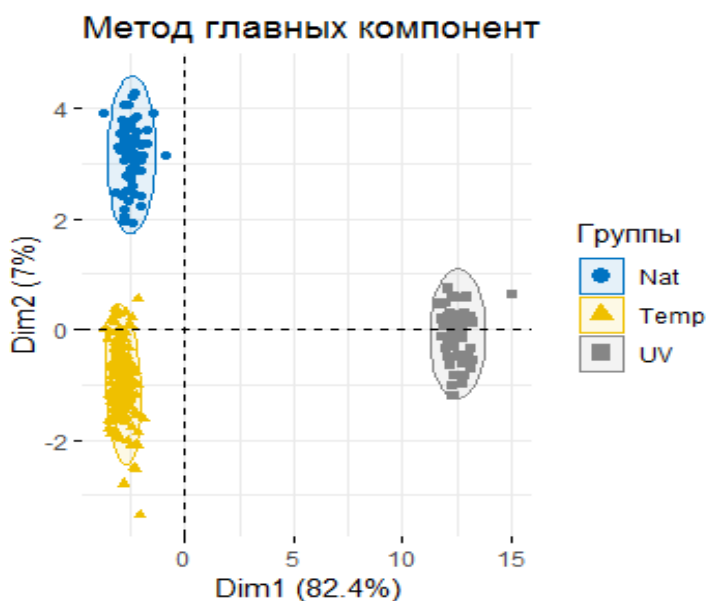
Полученные уравнения, описывающие тенденцию изменения содержания красителей с течением времени облучения, имеют вид кинетического уравнения реакции первого порядка. В таком случае параметр k можно рассматривать как константу скорости реакции деградации. Интересно отметить, что для различных красителей в составе паст одной ручки полученные значения величины k одинаковы (0.005 – для красителей CV и VbB в ручке *Corvina* и 0.002 – для красителей CV и VbBO в ручке *Pilot*). Кроме того, для красителя CV значение параметра k одинаково

для ручек *BIC* и *Corvina*. Можно предположить, что меньшее значение константы k для красителей ручки *Pilot* обусловлено присутствием в составе пасты компонента(-ов), подавляющего(-их) протекание фотохимических реакций.

Процессы естественного старения красителей в чернилах одних и тех же шариковых ручек изучали на протяжении трех лет с использованием созданной нами ранее модельной базы штрихов различных шариковых ручек, нанесенных в разное время в течение исследуемого периода. Для всех образцов красителей не наблюдалось каких-либо значимых изменений с течением времени. Можно считать, что относительное содержание красителей и продуктов их деградации в условиях естественного старения при хранении в закрытом виде без воздействия света (как солнечного, так и искусственного) остается постоянным на протяжении приблизительно трех лет. При сравнении образцов штрихов, подвергавшихся искусственному состариванию, а также штрихов, хранившихся в естественных условиях, можно видеть, что в выбранном временном интервале ускоренное старение образцов не может имитировать процесс естественного старения красителей.

Полученные характерные соотношения пиков красителей и их продуктов деградации, соответствующие определенному временному периоду, могут позволить выявить образцы штрихов шариковых ручек, умышленно состаренных в целях фальсификации документов. Процессы, происходящие с красителями шариковых ручек при естественном старении, являются более сложными и включают в себя комбинацию нескольких влияющих факторов.

В разделе «*Применение методов статистической обработки сырых данных для дифференциации рукописных штрихов, состаренных в естественных условиях хранения и искусственно состаренных*» описан подход выявления фальсифицированных образцов штрихов, подвергавшихся искусственному старению, с использованием метода главных компонент. Результаты методов классификации «без учителя» (Рис. 10) свидетельствуют о четком разбиении всех исследуемых образцов на группы, в зависимости от происхождения образцов (естественное старение и старения под воздействием повышенных температур). Подобные результаты означают то, что для правильной классификации достаточно 10 признаков (веществ-маркеров), а предложенный подход может быть применен для определения способа искусственного старения. Выявление структуры этих соединений,



накопление и расширение экспериментальной базы может дать ценную информацию о процессах разложения и старения компонентов паст шариковых ручек в различных условиях, а также классифицировать их по происхождению.

Рис. 10. Разбиение на группы образцы штрихов паст шариковых ручек с использованием метода главных компонент (желтая – область искусственно состаренных образцов под воздействием повышенных температур, серая – область искусственно состаренных образцов под воздействием УФ-излучения, синяя – область образцов штрихов, хранившихся в естественных условиях).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Изучены масс-спектры экстрактов штрихов паст шариковых ручек, полученные методом прямого ввода анализируемой пробы в масс-спектрометрический детектор в потоке подвижной фазы. Показана возможность вычитания масс-спектров экстрактов бумаги из масс-спектров экстрактов штрихов, что позволяет устранять мешающее влияние компонентов, входящих в состав бумаги, и определять характерные наборы ионов компонентов, входящих непосредственно в состав штрихов шариковых ручек.
2. Подобраны хроматографические параметры, при которых достигается приемлемое одновременное разделение и определение большого количества арилметановых красителей, входящих в состав паст шариковых ручек. В качестве подвижной фазы, обеспечивающей улучшение ионизации красителей в условиях электрораспылительной ионизации, предложена смесь, состоящая из 0.1% водного раствора муравьиной кислоты и ацетонитрила.
3. Идентифицирован ряд красителей, входящих в состав паст шариковых ручек, методами ВЭЖХ-ДМД и ВЭЖХ-МС, а также подтверждены структуры данных

красителей методом ВЭЖХ-МС высокого разрешения с ионизацией электрораспылением и масс-спектрами МС/МС фрагментации. Для этого были использованы характеристичные длины волн поглощения, а также характеристичные сигналы из масс-спектров низкого и высокого разрешения.

4. Разработан способ хромато-масс-спектрометрического определения красителей и выявления продуктов их деградации в условиях ускоренного старения нанесенных на бумагу штрихов паст шариковых ручек синего цвета *BIC Original*, *Corvina 51* и *Pilot* под воздействием повышенных температур (100, 130 и 150°C) и ультрафиолетового излучения. Показано, что с увеличением времени искусственного воздействия наблюдается существенное изменение содержания продуктов деградации относительно исходного красителя.
5. Сравнение масс-хроматограмм экстрактов чернил, полученных после естественного и искусственного старения показало, что процессы деградации красителей в этих условиях проходят по-разному. Показано, что результаты, полученные с использованием методов статистической обработки сырых данных, могут выявлять факты фальсификации документов посредством их искусственного старения.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

Список печатных работ по теме диссертации

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень Минобрнауки РФ, а также индексируемых в РИНЦ, Web of Science, Scopus.

1. **Akhmerova (Baygildieva) D.I.**, Krylova A., Stavrianidi A., Shpigun O., Rodin I. Forensic identification of dyes in ballpoint pen inks using LC-ESI-MS. // **Chromatographia**. 2017. V. 80. N. 11. P. 1701–1709.
2. **Байгильдиева Д.И.**, Крылова А.С., Байгильдиев Т.М., Шпигун О.А., Родин И.А. Изучение кинетики старения рукописных штрихов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. // Масс-спектрометрия. 2018. Т. 15. N. 4. С. 246–253.
3. **Байгильдиева Д.И.**, Байгильдиев Т.М., Шпигун О.А., Родин И.А. Сравнение кинетики различных вариантов искусственного старения рукописных штрихов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23. N. 1. С. 1–12.

Иные публикации

4. **Akhmerova (Baygildieva) D.I.**, Melihov I., Rodin I., Stavriainidi A., Shpigun O. Identification of dyes in ballpoint pen inks using HPLC with tandem mass-spectrometric and spectrophotometric detection // 10th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods. Siofok, Hungary, 2 – 4 September 2015, P. 77.
5. **Ахмерова (Байгильдиева) Д.И.**, Крылова А.С., Родин И.А., Шпигун О.А. Изучение возможностей высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для оценки срока давности нанесенного рукописного штриха. // III Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием. Краснодар, Россия, 21 – 27 мая 2017 г.
6. **Akhmerova (Baygildieva) D.I.**, Krylova A., Rodin I., Shpigun O. Opportunities of LC-MS analysis for studying kinetics of ballpoint pen ink strokes aging // 23rd International Symposium on Separation Sciences (ISSS 2017). Vienna, Austria, 19 – 22 September 2017.

7. **Ахмерова (Байгильдиева) Д.И.,** Крылова А.С., Родин И.А., Шпигун О.А. Возможности использования ВЭЖХ-МС для оценки срока давности нанесенного рукописного штриха. // 8-ой съезд ВМСО, VII Всероссийская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». Москва, Россия, 9 – 13 октября 2017 г.
8. **Baygildieva D.I.,** Baygildiev T., Shpigun O., Rodin I. Studying kinetics of artificial aging of ballpoint pen ink strokes using liquid chromatography mass spectrometry. // XI International Mass Spectrometry Conference on Petrochemistry, Environmental and Food Chemistry (Petromass 2018). Bled, Slovenia, 15–18 April, 2018.
9. **Baygildieva D.,** Baygildiev T., Ananieva I., Shpigun O., Rodin I. Comparison of natural and artificial aging kinetics of ballpoint pen ink strokes using liquid chromatography mass-spectrometry. // 32nd International Symposium on Chromatography (ISC 2018). Cannes-Mandelieu, France, 23 – 27 September 2018.
10. **Байгильдиева Д.И.,** Байгильдиев Т.М., Шпигун О.А., Родин И.А. Использование жидкостной хроматомасс-спектрометрии для изучения процессов деградации красителей паст шариковых ручек после искусственного старения рукописного штриха. // Материалы V Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием. Краснодар, Россия, 7 – 13 октября 2018.
11. **Байгильдиева Д.И.,** Байгильдиев Т.М., Шпигун О.А., Родин И.А. Сравнение кинетики деградации красителей паст шариковых ручек методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии при различных вариантах искусственного старения рукописного штриха. // Материалы VII Всероссийского симпозиума и Школы-конференции молодых ученых «Кинетика и динамика обменных процессов» Роль хроматографии в Separation Science. Сочи, Россия, 28 октября – 5 ноября 2018.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность и огромную благодарность научному руководителю д.х.н. Родину И.А. за участие и помощь в постановке задач, обсуждении результатов исследования, ценные советы и замечания при подготовке диссертации; чл.-корр. РАН, проф. Шпигуну О.А., д.х.н. Цизину Г.И., д.х.н. Ревельскому А.И., к.х.н. Байгильдиеву Т.М., к.х.н. Ставрианиди А.Н. за консультацию по тематике работы; аспиранту Плющенко И., студентам Мелихову И. и Крыловой А. принимавших активное участие в выполнении отдельных этапов данной работы; всем членам лаборатории хроматографии за помощь в работе.