

doi: 10.12452/j.fxcxb.24042404

超高效液相色谱法检验复印纸中荧光增白剂及其在文件真实性鉴定中的应用研究

李扬动*, 赵鹏程*, 王宗兴, 王逸飞, 吕荫妮, 张泽恩, 王千羽,
于郁沛, 何宇桓

(中国刑事警察学院 刑事科学技术学院, 辽宁 沈阳 110854)

摘要: 利用超高效液相色谱法对144种A4复印纸中荧光增白剂进行鉴别并对其老化规律进行研究。采用40%乙腈水溶液作为提取剂, 以含25 mmol/L 四丁基溴化铵(TBA)的甲醇-水溶液(5:95, 体积比)和乙腈-甲醇混合溶液(2:3, 体积比)为流动相梯度洗脱。结果表明, 复印纸中7种常见荧光增白剂在0.5~200 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, r^2 均大于0.999, 检出限为0.03~0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量下限为0.11~0.28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 3个不同加标水平下的平均回收率为92.1%~108%, 相对标准偏差(RSD)为1.6%~5.9%。在144种A4复印纸中共检出3种荧光增白剂, 分别为荧光增白剂BBU、VBL和MST, 依据其组成和比例将纸张样品分为8个大类, 45个小类, 再结合白度测量值, 又可分为53种类型。相同品牌型号的纸张, 克重不同, 所含染料配比与含量不一定相同。选取89号、29号和28号复印纸, 在紫外仪中透射老化10天, 2天测量一次, 3种复印纸荧光增白剂的含量和白度值均发生明显下降, 证明了利用荧光增白剂检验文件制成时间的可行性。该方法前处理简单, 数据稳定可靠, 可为文件的真实性鉴定提供一定的参考依据。

关键词: 超高效液相色谱; 荧光增白剂; 法庭科学; 纸张鉴别; 纸张老化

中图分类号: O657.7; D919.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2024)09-1398-11

Determination of Fluorescent Whitening Agent in Copy Paper by UHPLC and Its Application in Authentication of Documents

LI Yang-dong, ZHAO Peng-cheng*, WANG Zong-xing, WANG Yi-fei, LÜ Yin-ni,
ZHANG Ze-en, WANG Qian-yu, YU Yu-pei, HE Yu-huan

(College of Criminal Science and Technology, Criminal Investigation Police University of China,
Shenyang 110854, China)

Abstract: In this paper, the fluorescent whitening agents in 144 types of A4 copy paper, along with their identification and aging patterns, were investigated using the ultra-high performance liquid chromatography method, laying a research foundation for further determination of the production time of the documents based on the aging patterns of the paper. A 40% aqueous acetonitrile solution was employed as the extractant, while a methanol-aqueous solution (5:95, volume ratio) containing 25 mmol/L tetrabutylammonium bromide (TBA) and an acetonitrile-methanol mixed solution (2:3, volume ratio) were utilized as the mobile phase with gradient elution. The flow rate was 1 mL/min, the column temperature was 35 °C, the detection wavelength of the ultraviolet detector was 350 nm, and the injection volume was 10 μL . The results indicated that a good linear relationship was observed for the seven common fluorescent whitening agent standards in copy paper within the range of 0.5–200 $\mu\text{g/mL}$, with all r^2 values greater than 0.999. The detection limits of the method ranged from 0.03 to 0.08 $\mu\text{g/mL}$, and the quantitation limits of the method were 0.11–0.28 $\mu\text{g/mL}$. The average recoveries at three spiked levels were 92.1%–108%, and the relative standard deviations (RSDs) were 1.6%–5.9%. Among the 144 types of A4 copy paper, a total of three fluorescent whitening agents, namely BBU, VBL and MST, were detected. Based on their composition and proportion, the paper samples could be classified into 8 major categories and 45 minor categories. Combined with the measured whiteness values, 53 types could be distinguished. It was discovered during the experiment

收稿日期: 2024-04-24; 修回日期: 2024-06-18

基金项目: 公安部科技强警基础工作计划项目(2022JC03, 2023JC05)

* 通讯作者: 赵鹏程, 博士, 教授, 研究方向: 微量物证, E-mail: 327707656@qq.com

that for the same brand and model of paper, if the grammage differed, the dye ratio and content contained might not be the same. Copy papers numbered 89, 29, and 28 were selected and underwent transmission aging in an ultraviolet instrument for 10 days, with measurements taken once every two days. The contents of fluorescent whitening agents and the whiteness values of the three copy papers decreased significantly, demonstrating the feasibility of using fluorescent whitening agents to test the production time of the documents. This method features simple pretreatment and stable and reliable data, providing a certain reference basis for the authenticity identification of documents.

Key words: UHPLC; fluorescent whitening agent; forensic science; paper identification; paper aging

在数字化时代,纸张作为传统信息的载体是人们生活和工作不可或缺的一部分,广泛应用于各行各业。其中复印纸因光学性能好、打印效果好和稳定性高等优点,使用尤为频繁。随着市面上的复印纸品牌和型号逐年增多,生产厂家为能在市场中生存下去,不断更新纸张的生产工艺和组成成分^[1-3],增加了纸张物证检验鉴定的难度,对公安工作提出了更高要求。

与复印纸相关的案件不仅涉及纸上图文色痕材料的验证,还涉及纸张本身外观特征和化学物质的识别,可为案件调查提供线索。但因纸张外观相似,肉眼观察无明显的特征差别,很难作出客观真实的区分。纸张鉴别一直是法庭科学领域的研究热点,Qin等^[4]利用先进的光谱融合技术对基于共焦拉曼显微光谱和傅里叶变换红外光谱得出的200个样品的光谱数据进行表征和识别,采用主成分分析提取特征变量,构建贝叶斯判别分类模型,实现了“源头-厂家-品牌”的区分。Lee等^[5]将使用灰度共生矩阵(GLCM)方法和卷积神经网络(CNN)转换的图像中提取的纸张纹理特征与CNN使用相同图像作为输入提取的另一组特征相结合,实现了对7个主要纸张品牌的分类。崔连义^[6]采用紫外吸收光谱法测定纸中木质素等物质,通过峰数、峰位、峰形及吸光度值对34份纸张进行有效区分。尹宝华等^[7]对纸张的克重、白度和纤维种类等物理特征和元素构成进行检验,将多种数值通过计量学统计处理,实现了26种纸张的鉴别。刘彤彤^[8]采用离子色谱法检测了纸张中常见的5种阳离子,将60种不同厂家生产的不同品牌复印纸分为4类,又通过8种阴离子将复印纸分为9类。Kumar等^[9]使用衰减全反射傅里叶变换红外(ATR-FTIR)光谱对24种不同复印纸中的纤维素和无机填料进行了表征,通过主成分分析(PCA)实现有效区分。Tanase等^[10]建立了一种测定文件纸中8种痕量元素的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)方法,根据元素浓度区分来自5种不同制造商的纸张。张艺丹等^[11]通过气相色谱-质谱方法测定纸张中的烷基烯酮二聚体施胶剂(AKD),依据AKD原料配比、特征物质以及纸张中总酮含量将40种纸样分为3大类。同时也有利用毛细管电泳^[12]测定纸中纤维素、激光诱导击穿光谱^[13-15](LIBS)和激光烧蚀电感耦合等离子体质谱^[16](LA-ICP-MS)测定纸张中元素的研究工作。

为改善纸张的白度,制造商会在纸中添加荧光增白剂(FWA),以抵消纸浆基质的黄色色调^[17],在视觉上达到明亮、洁白的效果。同时,荧光增白剂在紫外线长时间照射下会发生降解^[18],导致纸张泛黄。本文采用超高效液相色谱(UHPLC)分析了市面上常见的144种A4复印纸中的荧光增白剂,通过色谱数据并结合白度值对纸张进行细致区分,并验证利用荧光增白剂判断文件形成时间的可行性,以期公安实践工作带来帮助。

1 实验部分

1.1 仪器与设备

Thermo U3000型液相色谱仪(美国Thermo Scientific公司)、AL204电子天平(瑞士Mettler-Toledo仪器公司)、HC-3018高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)、KQ-300DE型数控超声仪(昆山舒美超声仪器有限公司)、WD-9403F紫外仪(北京六一生物科技有限公司)、WSB-1白度计(杭州齐威仪器有限公司)、XW-80A微型涡旋混合仪(其林贝尔仪器制造有限公司)。

1.2 试剂与样品

荧光增白剂均购自上海泰坦科技有限公司:荧光增白剂BBU(CAS: 16470-24-9)、荧光增白剂SH(CAS: 28950-61-0)、荧光增白剂VBL(CAS: 12224-06-5)、荧光增白剂BSU(CAS: 76482-78-5)、荧光增白剂134(CAS: 3426-43-5)、荧光增白剂MST(CAS: 55585-28-9)、荧光增白剂CXT(CAS:

16090-02-1)。四丁基溴化铵(麦克林生化科技股份有限公司);乙腈和甲醇(色谱纯, J. T. Baker);超纯水。文件检验鉴定公安部重点实验室(中国刑事警察学院)样本库 144 种 A4 静电复印纸, 基本信息见表 1。复印纸在 2023 年 3 月网上统一购置, 包含网络上销量较高的得力、晨光和亚太森博等 64 个品牌, 样品产地分布在安徽、北京和广东等 13 个省市。

表 1 144 种复印纸的基本信息

Table 1 144 Basic information on photocopying papers

No.	Brand-series-weight/g	CIE white-ness value	Manufacturer	No.	Brand-series-weight/g	CIE white-ness value	Manufacturer
1	A 度-标款-80	79.2	山东寿光美伦纸业有 限公司	73	蓝旗舰-5 星-80	83.9	江苏昆山亚龙纸品有 限公司
2	Double A-100-80	85.9	上海达伯埃商贸有 限公司	74	朗呈-标款-70	81.9	上海祥旭信息科技有 限公司
3	DoubleA- premi-um-80	85.2	上海达伯埃商贸有 限公司	75	乐活天章-草珊瑚-80	84.7	广东珠海天章信息纸 品有 限公司
4	Staples-白金-80	86.6	上海史泰博有 限公司	76	丽普达-标款-70	84.9	河北深州商贸有 限公司
5	Staples-绿环保-80	84.0	上海史泰博有 限公司	77	玛丽文化-标款-80	85.8	湖北武汉玛丽文化用 品有 限公司
6	Staples-紫精装-70	78.9	上海史泰博有 限公司	78	玛丽文化-标款-70	81.0	湖北武汉玛丽文化用 品有 限公司
7	安兴-汇东-70	82.8	上海安兴实业有 限公司	79	玛丽文化-全木浆-70	82.9	湖北武汉玛丽文化用 品有 限公司
8	安兴-紫安图-70	84.3	上海安兴实业有 限公司	80	猫客-蓝-70	79.0	安徽合肥猫客文具有 限公司
9	安兴-传美-70	84.3	上海安兴实业有 限公司	81	猫客-蓝-80	81.2	安徽合肥猫客文具有 限公司
10	百思达-标款-70	85.1	江苏苏州百思达纸 制品加 工有 限公司	82	猫客-绿-70	79.2	安徽合肥猫客文具有 限公司
11	百旺-彩激纸-85	86.3	广东江门亚太森博 纸业有 限公司	83	猫客-绿-80	81.3	安徽合肥猫客文具有 限公司
12	百旺-绿-70	86.6	广东江门亚太森博 纸业有 限公司	84	猫客-黄-70	80.8	安徽合肥猫客文具有 限公司
13	超白-红 75	77.0	北京亚太金鹰国际 贸易有 限公司	85	猫客-黄-80	80.0	安徽合肥猫客文具有 限公司
14	晨光-金-70	86.0	上海晨光文具股份 有 限公司	86	明闻-飞派-70	85.9	浙江杭州明闻纸张有 限公司
15	晨光-绿-70	86.1	上海晨光文具股份 有 限公司	87	明闻-橙-70	85.8	浙江杭州明闻纸张有 限公司
16	晨光-紫-70	86.0	上海晨光文具股份 有 限公司	88	齐心-高速王-70	86.6	广东深圳齐心集团股 份有 限公司
17	晨光-959-70	86.4	上海晨光文具股份 有 限公司	89	齐心-本色-70	80.8	广东深圳齐心集团股 份有 限公司
18	晨光-S16D-70	85.9	上海晨光文具股份 有 限公司	90	齐心-原白-70	86.0	广东深圳齐心集团股 份有 限公司
19	晨光-S17D-80	86.2	上海晨光文具股份 有 限公司	91	齐心-优品-70	86.5	广东深圳齐心集团股 份有 限公司
20	晨光-美印-70	86.0	上海晨光文具股份 有 限公司	92	齐心-晶纯-70	81.9	广东深圳齐心集团股 份有 限公司
21	晨光-美印-80	86.8	上海晨光文具股份 有 限公司	93	巧会计-标款-70	81.3	安徽合肥巧会计纸业 有 限公司
22	晨光-银-70	86.2	上海晨光文具股份 有 限公司	94	青联-A4001-70	85.8	浙江杭州青联印刷有 限公司
23	晨光-银-80	85.7	上海晨光文具股份 有 限公司	95	得力-珊瑚海-70	83.5	浙江宁波得力集团有 限公司
24	晨鸣-A 度-70	79.6	广东湛江晨鸣纸业 有 限公司	96	尚乐佳-粉-70	85.6	浙江杭州秋乐工贸有 限公司
25	楚东森林-蓝-70	80.0	上海楚东纸业有 限公司	97	史泰博-心悦-80	80.4	天津史泰博电子商务 有 限公司
26	得力-金佳铂-70	82.5	浙江宁波得力集团 有 限公司	98	史泰博-心享-80	80.3	天津史泰博电子商务 有 限公司
27	得力-佳铂-70	83.6	浙江宁波得力集团 有 限公司	99	舒荣-4320-70	80.2	安徽合肥商贸有 限公司
28	得力-白令海-70	86.4	浙江宁波得力集团 有 限公司	100	双 A-标款-80	86.5	江苏盐城达伯埃纸业 有 限公司
29	得力-莱茵河-70	83.8	浙江宁波得力集团 有 限公司	101	双 A-标款-70	86.9	江苏盐城达伯埃纸业 有 限公司
30	得力-锐标-80	85.8	浙江宁波得力集团 有 限公司	102	斯乐-标款-70	86.3	浙江杭州秋乐工贸有 限公司
31	得力-佳宣-70	80.8	浙江宁波得力集团 有 限公司	103	天色-标款-80	82.9	广东广州三横信息科 技有 限公司
32	得力-铭锐-70	86.3	浙江宁波得力集团 有 限公司	104	天逸-红-70	76.4	河南郑州天逸纸业有 限公司
33	得力-辉铂-70	85.4	浙江宁波得力集团 有 限公司	105	天逸-黄-70	77.1	河南郑州天逸纸业有 限公司

(续表1)

No.	Brand-series-weight/g	CIE whiteness value	Manufacturer	No.	Brand-series-weight/g	CIE whiteness value	Manufacturer
34	得力-绿柏-70	86.2	浙江宁波得力集团有限公司	106	天逸-紫-70	76.4	河南郑州天逸纸业有限公司
35	得力-锐冠-70	80.3	浙江宁波得力集团有限公司	107	天逸-紫-80	76.8	河南郑州天逸纸业有限公司
36	得力-标王-70	85.8	浙江宁波得力集团有限公司	108	天章-新橙-70	83.6	广东珠海天章信息纸品有限公司
37	得力-凯锐-70	86.4	浙江宁波得力集团有限公司	109	天章-新绿-70	85.9	广东珠海天章信息纸品有限公司
38	得力-铭锐-80	80.6	浙江宁波得力集团有限公司	110	天章-龙-80	84.9	广东珠海天章信息纸品有限公司
39	得力-纯木浆-80	86.1	浙江宁波得力集团有限公司	111	天章-彩色-80	83.6	广东珠海天章信息纸品有限公司
40	得力-佳宣-80	87.0	浙江宁波得力集团有限公司	112	天章-红龙-80	84.3	广东珠海天章信息纸品有限公司
41	得力-护眼-75	81.9	浙江宁波得力集团有限公司	113	川府熊猫-标款-70	80.9	四川成都欧环鑫科技有限公司
42	得力-全木浆-70	83.0	浙江宁波得力集团有限公司	114	协同办公-米黄-70	83.8	山东泰安协同办公纸业有限公司
43	得力-多功能-70	83.3	浙江宁波得力集团有限公司	115	欣乐-标款-70	87.4	江苏常熟芬欧汇川(中国)有限公司
44	得力-3652-70	79.4	浙江宁波得力集团有限公司	116	新好-粉-70	86.3	江苏常熟芬欧汇川(中国)有限公司
45	得力-蓝标-80	81.1	浙江宁波得力集团有限公司	117	旭东鑫-多彩乐见-70	81.3	广东深圳旭东鑫纸业有限公司
46	得印-标款-80	83.5	北京北方办公用品公司	118	亚太森博-亮丽-70	85.6	广东江门亚太森博纸业有限公司
47	富美-标款-70	80.8	山东济南富美打印集团有限公司	119	亚太森博-派部落-70	86.3	广东江门亚太森博纸业有限公司
48	广博-锐光-70	82.9	浙江宁波集团股份有限公司	120	亚太森博-拷贝可乐-70	86.7	广东江门亚太森博纸业有限公司
49	海之欧-红-70	81.2	成都欧环鑫科技有限公司	121	亚太森博-雅文-70	85.9	广东江门亚太森博纸业有限公司
50	海之欧-蓝-80	82.0	成都欧环鑫科技有限公司	122	亚太森博-卓锦-70	84.6	广东江门亚太森博纸业有限公司
51	汗青-标款-70	80.8	黑龙江哈尔滨天纬办公设备有限公司	123	亚太森博-天蝎座-70	86.4	广东江门亚太森博纸业有限公司
52	好顺-紫-70	87.1	江苏常熟芬欧汇川(中国)有限公司	124	亚太森博-相思-70	86.2	广东江门亚太森博纸业有限公司
53	好子民-标款-80	81.1	广东佛山梁氏纸业有限公司	125	亚太森博-相思-80	86.1	广东江门亚太森博纸业有限公司
54	好子民-标款-70	81.1	广东佛山梁氏纸业有限公司	126	易利丰-彩色-160	84.0	北京易利丰商贸有限公司
55	互信-标款-70	81.2	安徽杰品纸业有限公司	127	樱花-红-70	86.1	上海凯顿办公设备有限公司
56	互信-蓝-70	78.9	安徽杰品纸业有限公司	128	樱花-红-80	86.9	上海凯顿办公设备有限公司
57	火鸡-标款-70	80.7	广东东莞广伦纸品制造厂	129	樱花-橙-70	80.8	上海凯顿办公设备有限公司
58	佳能-中性-70	87.3	北京佳能(中国)有限公司	130	赢佳-标款-70	84.0	山东济宁中天纸业有限公司
59	金蝶妙想-KB-70	80.0	广东深圳金蝶妙想互联有限公司	131	优立方-粉红-80	85.4	江苏昆山亚龙纸品有限公司
60	金蝶妙想-M1104-70	81.2	广东深圳金蝶妙想互联有限公司	132	优翼-标款-80	80.0	安徽合肥易正文化有限公司
61	金蝶妙想-标款-80	81.0	广东深圳金蝶妙想互联有限公司	133	优翼-标款-70	80.9	安徽合肥易正文化有限公司
62	金风-标款-80	82.2	广东东莞金宝兄弟纸品实业有限公司	134	友元办公-青年时代-70	86.4	天津友元办公联盟股份有限公司
63	金风-标款-70	80.6	广东东莞金宝兄弟纸品实业有限公司	135	元浩-锐致-70	83.7	上海兹浩贸易有限公司
64	金旗舰-暗绿-70	84.2	江苏昆山亚龙纸品有限公司	136	元浩-锐致-80	82.8	上海兹浩贸易有限公司
65	金太阳-橙-70	84.1	山东济宁阳光纸制品有限公司	137	元浩-致惠-70	76.3	上海兹浩贸易有限公司
66	金太阳-绿-70	84.5	山东济宁阳光纸制品有限公司	138	云年-标款-70	78.5	上海安善纸品有限公司

(续表 1)

No.	Brand-series-weight/g	CIE white-ness value	Manufacturer	No.	Brand-series-weight/g	CIE white-ness value	Manufacturer
67	金雅-绿-70	80.6	广东东莞金宝兄弟纸品实业有限公司	139	真彩-标款-80	79.9	江苏昆山真彩文具股份有限公司
68	金逸嘉轩-蓝金逸-70	80.4	上海金逸嘉轩纸业有限公司	140	真彩-标款-70	80.9	江苏昆山真彩文具股份有限公司
69	京东京造-釉彩甄享-80	86.4	广东江门亚太森博纸业有限公司	141	真彩-7018-70	80.8	江苏昆山真彩文具股份有限公司
70	久印-标款-70	81.9	上海鑫文贸易有限公司	142	甄白-橙-70	83.8	黑龙江甄白纸业集团有限公司
71	久印-星空-80	83.5	上海鑫文贸易有限公司	143	卓越佳印-标款-85	85.8	江苏常熟芬欧汇川(中国)有限公司
72	酷印-橙-70	84.1	山东济宁天章纸业有限公司	144	卓越佳印-白龙-85	86.3	江苏常熟芬欧汇川(中国)有限公司

1.3 仪器工作条件

Waters Nova-Pak C₁₈ 色谱柱(3.9 mm×150 mm, 4 μm), 流动相 A 为含 25 mmol/L 四丁基溴化铵(TBA)的甲醇-水溶液(5:95, 体积比), 流动相 B 为乙腈-甲醇混合溶液(2:3, 体积比)。洗脱程序为: 0~5 min, 56% B; 5~6 min, 56%~60% B; 6~10 min, 60% B; 10~13 min, 60%~62% B; 13~15 min, 62% B; 15~16 min, 62%~56% B; 16~19 min, 56% B; 流速为 1 mL/min; 柱温为 35 °C; 紫外检测器检测波长为 350 nm; 进样体积为 10 μL。

1.4 实验方法

1.4.1 标准溶液的制备 准确称取 7 种荧光增白剂标准品各 10 mg, 分别用 40% 乙腈水溶液溶解后, 置于 50 mL 棕色容量瓶中稀释至刻度, 得到质量浓度为 200 μg/mL 的混合标准工作液。吸取上述适量混合标准工作液, 用 40% 乙腈水溶液逐级稀释成质量浓度为 0.1、1、10、50、100、200 μg/mL 的混合标准工作溶液, 4 °C 避光储存备用。

1.4.2 纸张白度值检验 参考现有文献^[19], 使用 WSB-1 白度计测定样品库中所有纸张的白度值, 仪器校准后, 每种纸取 3 张, 每张纸重复测量 3 次, 最终取平均值, 结果见表 1。

1.4.3 纸张样品中荧光增白剂的提取 用直径为 15 mm 的打孔器在纸张样品中取两个点, 置于 5 mL 塑料离心管中, 用 40% 乙腈水溶液提取, 定容至 2 mL, 涡旋振荡 1 min, 超声 40 min, 以 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液备检。实验操作避光进行。

1.4.4 方法重现性和稳定性考察 为保证检验方法的重现性和稳定性, 从样品库中选取 1、6、11、16、21、26 号 6 种复印纸, 随机抽 1 张纸, 在每张纸的上中下 3 个位置取样; 从上述复印纸中随机抽出 6 张纸, 在相同位置取样。对峰面积、保留时间和白度值进行检测, 考察复印纸和仪器的数据稳定性。

1.4.5 纸张样品的光照实验 选取 89 号、29 号和 28 号复印纸, 将 3 张含有单个不同荧光增白剂的纸张放置在紫外仪中透射老化, 按照“1.4.3”处理过程, 2 天取样 1 次备检, 并测量白度值。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 色谱柱的选择 为实现最佳分离, 在相同的流动相条件下, 比较了 Synchronis C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Waters Nova-Pak C₁₈(3.9 mm×150 mm, 4 μm)、diamonsil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)、Shim-pack vp-phenyl(250 mm×4.6 mm, 5 μm)对 7 种荧光增白剂的分离能力。结果表明, 采用 diamonsil C₁₈ 和 Shim-pack vp-phenyl 分离时目标物的峰形拖尾严重, 荧光增白剂 VBL 和 BSU 无法有效分离。Synchronis C₁₈ 和 Waters Nova-Pak C₁₈ 均有较好的分离能力, 考虑到分析时长和柱子的耐用性, 选用 Waters Nova-Pak C₁₈ 作为分离色谱柱(见图 1)。

2.1.2 流动相及柱温的优化 实验室常用的流动相多为水-甲醇和水-乙腈, 根据以往文献^[20-21], 在有机相中添加甲醇或乙腈很难实现基线分离。尝试以不同比例的甲醇和乙腈混合溶剂为有机相, 实验表明乙腈-甲醇混合溶液(2:3)的分离效果最好, 因此选作有机相。

考察了离子对试剂对目标物峰形的影响。本实验7种荧光增白剂均为双三嗪氨基二苯乙烯型, 属于阴离子型染料, 含有较多离子型的磺酸基团, 在色谱柱上易造成峰拖尾或峰分叉, 为改善色谱峰形, 需要在流动相中添加离子对试剂。实验表明乙酸铵和四丁基溴化铵对峰形、保留值和灵敏度有一定改善, 其中四丁基溴化铵的效果更好。因此采用四丁基溴化铵作为流动相的离子对试剂。

考察了不同柱温(25、30、35、40、45 °C)对目标物分离效果的影响。结果表明, 在柱温35 °C时分离效果最好, 因此选择柱温为35 °C。

2.2 提取条件优化

2.2.1 提取剂的选择 考察了不同提取剂对复印纸中荧光增白剂的提取效果, 发现提取效果顺序为: 水 < 甲醇 < 乙腈 < N, N-二甲基甲酰胺(DMF) < 40%乙腈水溶液, 其中DMF会出现较多杂峰, 因此采用40%乙腈水溶液作为提取剂。

2.2.2 提取时间的选择 考察了超声时间(10、20、30、40、50 min)对荧光增白剂提取效果的影响。结果显示, 40 min时提取量达到最大值, 因此选择提取时间为40 min。

2.2.3 净化方式的选择 取5 μg/mL混合标准溶液, 比较了6种滤膜(0.45 μm)和离心5 min(10 000 r/min)对目标物回收率的影响。结果表明, 尼龙66(Nylon 66)和聚四氟乙烯疏水滤膜(PEFE)对增白剂有很强的吸附作用, 混合纤维素膜(MCE)、聚醚砜亲水滤膜(PES hydrophilic)、聚四氟乙烯亲水滤膜(PTFE hydrophilic)、玻璃纤维滤膜(Glass fiber)和离心方式均具有很高的回收率。考虑到实验成本和普适性, 采用离心进行后续实验。

2.3 重现性和稳定性

按照“1.4.3”方法, 以标准品比对出的荧光增白剂峰为参考样本, 对6张不同型号复印纸的上中下3个位置进行取样, 上机分析。结果显示, 保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为0.030%~0.85%和0.12%~2.4%; 从6种型号的复印纸中各随机抽取6张纸, 在相同位置取样, 保留时间和峰面积的RSD分别为0.030%~0.84%和0.19%~3.7%。

按照“1.4.2”方法, 对上述6张不同品牌纸张的上中下3个位置进行白度值测量, RSD为0.040%~2.2%; 从6种型号的复印纸样品中各随机抽取6张纸, 在相同位置测量, RSD为0.47%~3.3%。以上数据表明, 利用超高效液相色谱法对纸张进行鉴别具有可行性, 取样位置对最终数据不会造成影响。

2.4 方法学验证

按照本方法对系列标准溶液进行测定, 以质量浓度(X , μg/mL)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 计算7种荧光增白剂的线性回归方程和相关系数, 结果如表2所示。7种荧光增白剂在0.5~200 μg/mL范围内线性关系良好, 相关系数(r^2)均大于0.999, 检出限为0.03~0.08 μg·mL⁻¹, 定量下限为0.11~0.28 μg·mL⁻¹。

在空白纸张中添加低、中、高3个浓度水平的标准溶液, 进行加标回收实验, 每个样品平行进样6次, 测定方法回收率和RSD, 结果见表3。7种荧光增白剂的加标回收率为92.1%~108%, RSD为1.6%~5.9%, 表明本方法能够满足实际检测的要求。

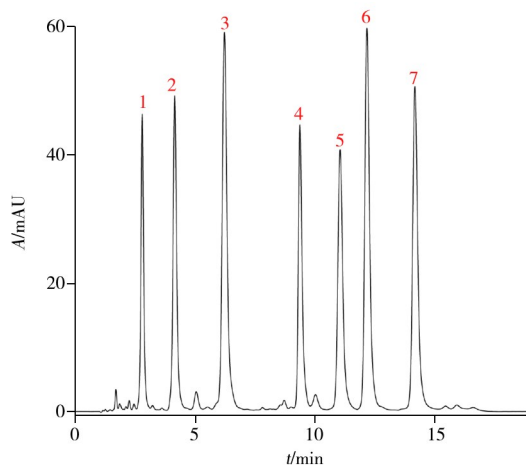


图1 7种荧光增白剂标准品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of seven fluorescent whitening agent standards

1: BBU; 2: SH; 3: VBL; 4: BSU; 5: 134; 6: MST; 7: CXT

表2 7种荧光增白剂的线性关系、检出限及定量下限(LOQ)

Table 2 Linear relations, limits of detection, limits of quantification of seven fluorescent whitening agents

Compound	Regression equation	Linear range/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r^2	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
BBU	$Y = 0.3343X + 0.0988$	0.5 ~ 200	0.9997	0.05	0.18
SH	$Y = 0.3831X + 0.1126$	0.5 ~ 200	0.9990	0.04	0.11
VBL	$Y = 0.4129X - 0.3341$	0.5 ~ 200	0.9994	0.07	0.26
BSU	$Y = 0.3288X - 0.3963$	0.5 ~ 200	0.9991	0.06	0.16
134	$Y = 0.3027X - 0.2796$	0.5 ~ 200	0.9992	0.04	0.11
MST	$Y = 0.4288X - 0.2796$	0.5 ~ 200	0.9991	0.03	0.12
CXT	$Y = 0.4062X + 0.4932$	0.5 ~ 200	0.9993	0.08	0.28

表3 复印纸中7种荧光增白剂的加标回收率和相对标准偏差($n=6$)Table 3 Spiked recoveries and RSDs of seven fluorescent whitening agents in copy paper($n=6$)

Compound	Added 1 $\mu\text{g/mL}$		Added 20 $\mu\text{g/mL}$		Added 200 $\mu\text{g/mL}$	
	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
BBU	93.8	3.3	107	2.2	94.5	1.6
SH	106	3.0	105	3.3	95.8	3.3
VBL	93.4	3.1	94.2	3.0	95.5	3.7
BSU	92.1	1.7	108	2.8	93.7	4.8
134	106	5.9	103	5.0	101	4.8
MST	102	4.3	103	3.5	103	4.8
CXT	99.0	3.2	98.5	2.0	101	3.7

2.5 复印纸中荧光增白剂的分析

2.5.1 常见荧光增白剂 采用建立的分析方法对144种静电A4复印纸进行测定,与7种标准品比对,进行定性定量分析,共确认出BBU、VBL和MST 3种荧光增白剂的峰,且增白剂的相对峰面积占比较高,可将复印纸分为8大类:7类含有荧光增白剂和1类无增白剂的纸张(见图2)。样品库中BBU型的纸张数量最多,占37.5%;其次是VBL+MST型,占25%。推测市面上,BBU型和VBL+MST型复印纸出现频率最高。因VBL应用较早,先前纸中荧光增白剂的报道多围绕VBL展开^[22-25],而本文样品库中VBL型复印纸只有9.7%。其中41号(得力护眼)未检出增白剂,基线平稳,其在紫外灯照射下的荧光图像见图3。与另外3种复印纸相比,41号未观察到荧光现象,具有较强的特异性。

2.5.2 依据荧光增白剂对复印纸分类 实验的纸张中不仅含有上述3种荧光增白剂,还含有其他染料^[26]。不同品牌型号克重纸张的染料配比差距较大,荧光增白剂为其主要成分;相同品牌型号克重的纸张,成分一致。将液相色谱的分析结果用于纸张的进一步区分,以峰形、峰数和峰高比作为区分依据,不考虑峰面积,对相似的色谱数据归类,结果见图4。以罗马数字表示大类,如I表示BBU型、II表示VBL型,字母表示大类下的小类,可将41号除外的143种复印纸分为44个小类,结果见表4。同时可根据每小类不同纸张峰面积的不同,做进一步的分类。

实验发现相同品牌型号的纸张,克重不同,所含染料配比与含量不一定相同,如62号金风-标款(80 g)的色谱数据可以归类于I-d,63号金风-标款(70 g)的

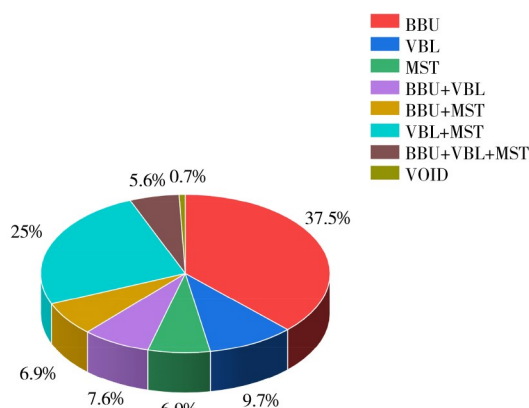


图2 144种复印纸中荧光增白剂种类占比
Fig. 2 Percentages of fluorescent whitening agent types in 144 types of copy paper

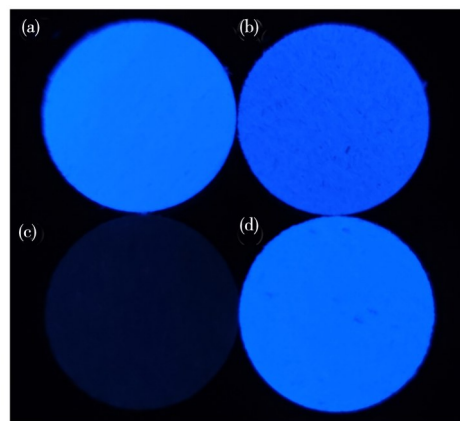


图3 4种复印纸的紫外荧光图
Fig. 3 UV fluorescence charts of 4 types of copy paper
a: 144; b: 61; c: 41; d: 9

色谱数据归类于IV-b; 127号樱花红(70 g)的色谱数据属于VII-d, 128号樱花红(80 g)属于III-a等。

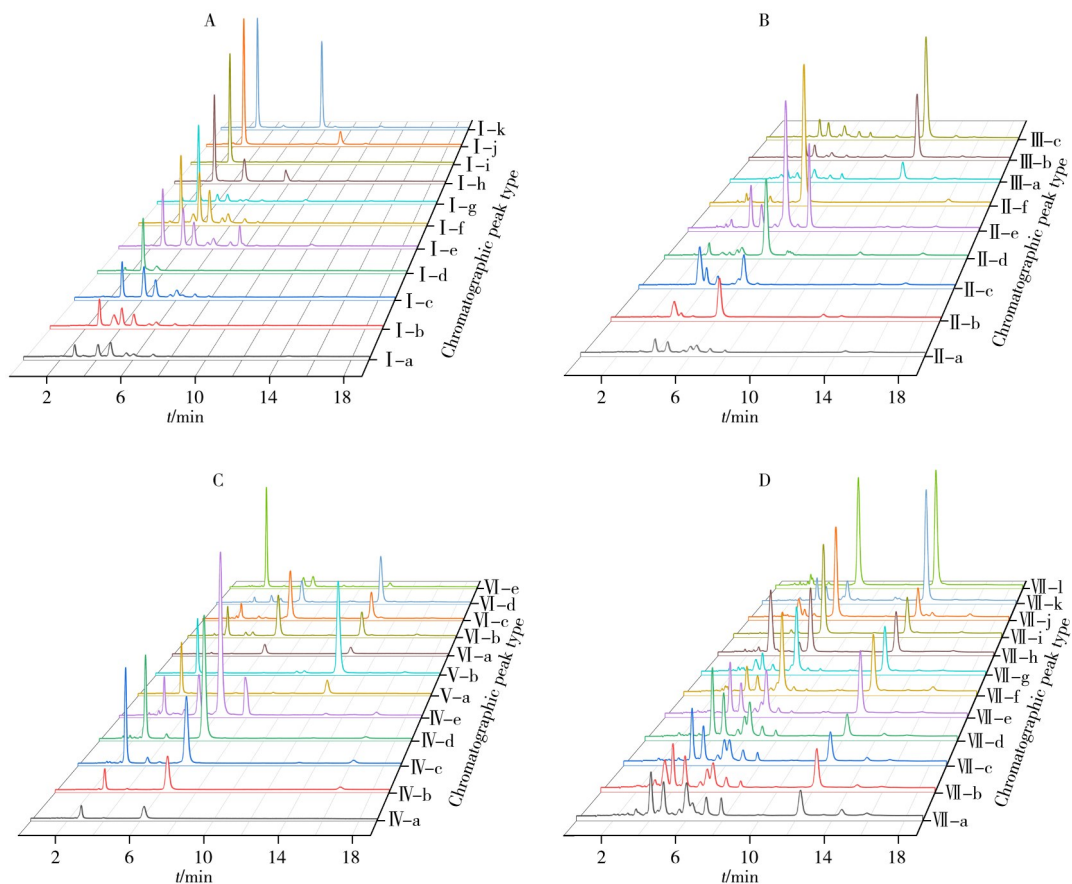


图4 144种复印纸荧光增白剂的色谱峰类型

Fig. 4 Chromatographic peak types of 144 fluorescent whitening agent for copy paper

A: BBU type; B: VBL+MST type; C: BBU+VBL type, BBU+MST type, BBU+VBL+MST type; D: VBL+MST type

2.5.3 复印纸白度区分 “2.3”的结果表明, 复印纸白度是相对稳定的数据, 可将白度值作为纸张区分的一个要素。样品库中的白度值频数占比信息如图5所示, 样品库纸张的白度值主要以83为界限, 分布在两侧。取144种复印纸白度值的中位数83.2, 将纸张分为两种, ≤ 83.2 为一类, > 83.2 为另一类, 结合图4分类结果可得到更细化的分类, 如表4所示, > 83.2 的纸张序号颜色设为绿色。若某一行同时存在绿色和黑色序号, 视为这一小类中存在2种纸; 若只有单色数字, 则这一小类中只存在1种纸。基于此可将样品库的纸张分为53种。MST的增白效果最明显, 因此MST型的复印纸白度值高, 样品全部 > 83.2 ; 其余和MST搭配的增白剂, 复印纸的白度值也较高, 绝大部分 > 83.2 。BBU的增白效果不如MST和VBL, BBU型复印纸的白度值大部分 ≤ 83.2 。纸张的白度值不仅与荧光增白剂的种类有关, 还与增白剂的添加量相关^[27-28], 造纸过程中, 在纸浆中添加荧光增白剂可以提高纸张白度。随着添加量的增加, 纸张的光学性能明显改善, 白度随之提高, 直至达到光学性能的饱和点^[29-30]。

2.5.4 复印纸中荧光增白剂含量递变规律的初步研究 纸张长时间保持在紫外光照条件下, 荧光增白剂会发生降解, 含量递减, 导致纸张老化泛黄。可根据荧光增白剂的递变情况反推纸张的老化时间, 实现文件制成时间鉴定的技术突破。选取3种含有单个增白剂的纸张, 在紫外仪中模拟太阳光进行透

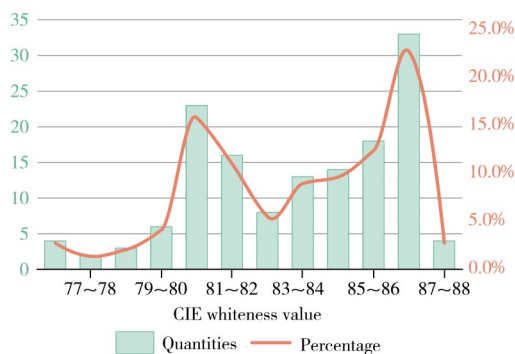


图5 144种复印纸白度值频数占比分布

Fig. 5 Frequency distribution of whiteness values of 144 kinds of copy paper

射老化, 为期 10 d, 观测纸中荧光增白剂含量的递变情况, 如图 6 所示。在紫外灯的长时间透射下, 3 种类型的纸张以肉眼可见的程度变黄, 荧光增白剂的含量发生明显递减, 白度也相应减小。29 号 VBL 型纸张的变化最大, VBL 含量下降了 74.7%, 白度下降了 9.2。实验证明了利用荧光增白剂判断纸张形成时间的可行性。

表 4 144 种复印纸的分类结果
Table 4 Classification results of 144 copying papers

FWA	Number	Chromatographic peak type
BBU	57	I-a
	93	I-b
	6	I-c
	54, 60, 62	I-d
	70	I-e
	78, 80, 82, 84, 129, 132, 139, 140, 141	I-f
	68	I-g
	111	I-h
	1, 4, 24, 25, 26, 27, 38, 44, 47, 51, 55, 56, 67, 68, 74, 81, 83, 85, 89, 97, 98, 99, 104, 105, 106, 107, 113, 117, 133	I-i
	137	I-j
	43, 79, 103, 135, 136, 142	I-k
VBL	12, 123	II-a
	11, 49, 53, 95	II-b
	118	II-c
	7, 116	II-d
	29, 52	II-e
	50, 76, 114	II-f
MST	34, 39, 90, 102, 124, 125, 128	III-a
	144	III-b
	28, 110	III-c
BBU+VBL	101	IV-a
	2, 3, 35, 59, 63	IV-b
	61, 138	IV-c
	45, 100	IV-d
	46	IV-e
BBU+MST	10, 42, 64, 72, 73, 92, 112, 131	V-a
	65, 66	V-b
VBL+MST	19, 22, 32, 33, 94	VII-a
	16	VII-b
	36, 37, 77	VII-c
	17, 58, 69, 87, 120, 127	VII-d
	15, 18, 71	VII-e
	30	VII-f
	121	VII-g
	48	VII-h
	119	VII-i
	14, 91	VII-j
	20, 21, 23, 40, 86, 88, 96, 115, 122	VII-k
	75, 108, 130	VII-l
BBU+VBL+MST	109, 126, 134	VI-a
	8, 9	VI-b
	5	VI-c
	143	VI-d
	13	VI-e
VOID	41	-

*: the whiteness value of the paper sample greater than 83.2 is marked green in the table

2.6 案例应用

2024 年 2 月 3 日, 某公司向警方报案称: 该公司与原员工龚某签订的用工合同(共 5 页), 第二页与之前的内容不一致, 怀疑被换页篡改。采用本方法按照“2.4”的线性回归方程, 检验检材中荧光增白剂的浓度。在第二页合同中只检出 BBU(18.415 $\mu\text{g/mL}$), 色谱峰类型属于 I-i, 使用白度仪测得白度

值为79, 小于83.2; 其余4页合同的色谱数据稳定, 含有的荧光增白剂种类相同, 浓度波动小, 检出BBU(9.981 $\mu\text{g/mL}$)和VBL(4.236 $\mu\text{g/mL}$), 色谱峰类型属于IV-c, 测得白度值为81, 小于83.2, 具体检验结果见图7。该鉴定结果为案件侦破提供了科学指导和方向指引。

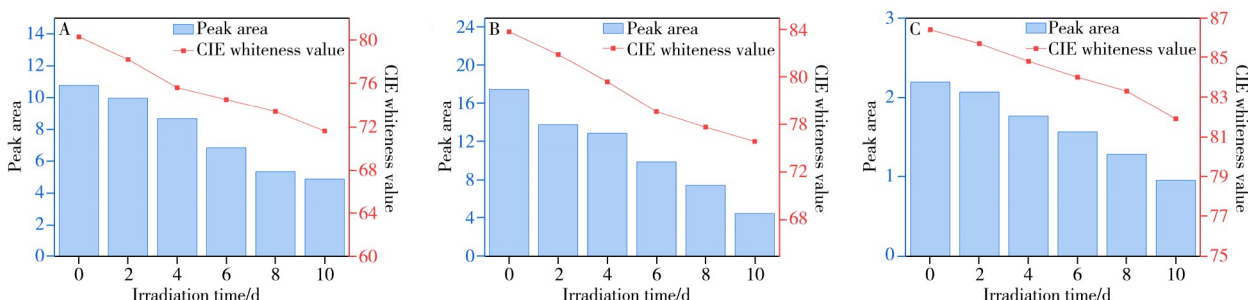


图6 荧光增白剂含量及白度的递变图

Fig. 6 Graded diagrams of fluorescent whitening agent content and whiteness value of the progression of the graph

A: No. 89-BBU; B: No. 29-VBL; C: No. 28-MST

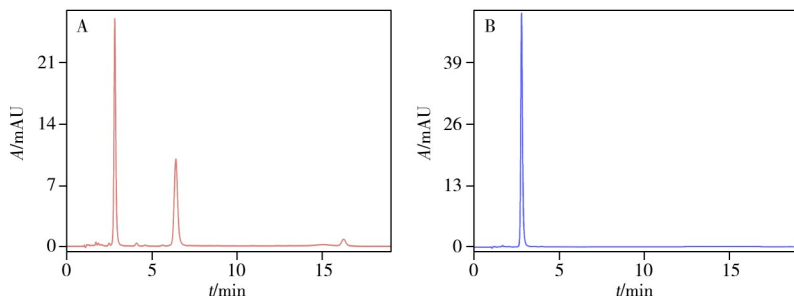


图7 用工合同第一页(A)与第二页(B)的色谱图比对

Fig. 7 Comparison of the chromatograms of the first (A) and second pages(B) of the employment contract

3 结论

本文建立了UHPLC测定纸中荧光增白剂的方法, 并通过色谱数据将144种A4复印纸分成8个大类, 45个小类, 结合白度值可细分为53种。同时验证了利用荧光增白剂检验文件形成时间的可行性。该方法具有操作简单、区分度高、稳定性高等优点, 可为纸张检验鉴定提供依据。后续将收集更多标准品, 扩大样品范围, 建立复印纸鉴别数据库。同时, 对于含有不同荧光增白剂复印纸的老化实验, 将增加老化纸样数量, 设计更多的老化环境, 追踪检测纸张老化过程中荧光增白剂的含量变化, 探究荧光增白剂在复印纸中的递变规律, 确定不同类型复印纸阶段性递变时间节点, 将文件制成时间检验对象扩大到纸张, 以期文件检验提供更多的科学依据。

参考文献:

- [1] Ahn E, Kim T, Jeon Y, Kim B S. *ACS nano*, **2020**, 14(5): 6173–6180.
- [2] Sharma M, Aguado R, Murtinho D, Valente A J, De Sousa A P M, Ferreira P J. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2020**, 162: 578–598.
- [3] Zhang G H, Guo M Y, Ma Y N, Du L, Pei J, Liu G J. *Appl. Surf. Sci.*, **2019**, 466: 715–723.
- [4] Qin G, Zhang Z, Wu S H, Liu H C, Liu F B, Jia Z J. *Spectrochim. Acta A*, **2023**, 302: 123144.
- [5] Lee J, Kim H, Yook S, Kang T Y. *J. Forensic Sci.*, **2023**, 68(5): 1808–1815.
- [6] Cui L Y. *China Pulp Pap.* (崔连义. 中国造纸), **2021**, 40 (2): 37–43.
- [7] Yin B H, Guo H L, Lin L X, Qi F L, Li S F, Zhao Y B. *Forensic Sci. Technol.* (尹宝华, 郭洪玲, 林雷祥, 齐凤亮, 李世峰, 赵彦彪. 刑事技术), **2017**, 42 (2): 124–128.
- [8] Liu T T. *J. Crim. Invest. Police Univ. China* (刘彤彤. 中国刑警学院学报), **2021**, (4): 118–123.
- [9] Kumar R, Kumar V, Sharma V. *Spectrochim. Acta A*, **2017**, 170: 19–28.
- [10] Tănase I G, Popa D E, Udriștioiu G E, Bunaciu A A, Aboul-Enein H Y. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **2014**, 44(4): 311–327.
- [11] Zhang Y D, Yang R Q, Lian Z. *J. Instrum. Anal.* (张艺丹, 杨瑞琴, 廉哲. 分析测试学报), **2024**, 43(3): 464–473.
- [12] Fernandez de la O M A, Ortega-Ojeda F, García-Ruiz C. *Electrophoresis*, **2014**, 35(21/22): 3264–3271.

- [13] Metzinger A, Rajkó R, Galbács G. *Spectrochim. Acta B*, **2014**, 94: 48–57.
- [14] Lennard C, El-Deftar M M, Robertson J. *Forensic Sci. Int.*, **2015**, 254: 68–79.
- [15] Sarkar A, Aggarwal S K, Alamelu D. *Anal. Methods*, **2010**, 2(1): 32–36.
- [16] Trejos T, Flores A, Almirall J R. *Spectrochim. Acta B*, **2010**, 65(11): 884–895.
- [17] Zhang G H, Guo J G, Xu H L. *China Pulp Paper* (张光华, 郭锦鸽, 徐海龙. 中国造纸学报), **2012**, 27(2): 29–34.
- [18] Chen R Y, Qu J G, Zhao Q Q, He J X. *Fibers Polym.*, **2014**, 15(9): 1915–1920.
- [19] Guo M Y, Zhang G H, Guo M Z. *China Pulp Pap.* (郭明媛, 张光华, 郭明哲. 中国造纸), **2023**, 42 (09): 46–53.
- [20] Zuo J F, He Z H, Xiong M J, Zhu B J. *J. Instrum. Anal.* (左军凤, 贺针华, 熊马剑, 朱碧君. 分析测试学报), **2020**, 39(9): 1098–1104.
- [21] Liang R Y, Li Z C, Wang L F, Bao L, Li D, Pan J J, Zhong H N, Zheng J G. *J. Instrum. Anal.* (梁瑞钰, 黎梓城, 汪龙飞, 鲍蕾, 李丹, 潘静静, 钟怀宁, 郑建国. 分析测试学报), **2021**, 40(6): 934–939.
- [22] Deng K F, Ren J L, Peng X L, Li Z H, Yuan L J. *Food Mach.* (邓凯芬, 任佳丽, 彭湘莲, 李忠海, 袁烈江. 食品与机械), **2012**, 28 (3): 96–100.
- [23] Pan K L, Yang L, Liu Y, Wang C, Li S W. *Chem. Res. Appl.* (潘可亮, 杨利, 刘勇, 王川, 李树伟. 化学研究与应用), **2010**, 22 (9): 1210–1213.
- [24] He Z, Xu R, Lin J, Yan N, Chen C, Chen R, Chai X. *Spectrosc. Spectral Anal.*, **2020**, 40(6): 1758–1762.
- [25] Zhao X, Yang D, Pang Y, Shen X. *Spectrochim. Acta A*, **2020**, 231: 118125.
- [26] Hubbe M A, Pawlak J J, Koukoulas A A. *BioResources*, **2008**, 3(2): 627–665.
- [27] Zhang G H, Liu D, Wang F, Guo M Y, Tang J X. *Chem. Ind. Eng. Prog.* (张光华, 刘丹, 王帆, 郭明媛, 唐进霞. 化工进展), **2019**, 38(11): 5084–5090.
- [28] Zhang R, Ni Y, Wong D, Schmidt J, Heitner C, Jordan B. *J. Wood Chem. Technol.*, **2009**, 29(4): 358–370.
- [29] Zhang H J, Hu H R, He Z B, Ni Y H, Zhou Y J. *J. Wood Chem. Technol.*, **2007**, 27(3/4): 153–167.
- [30] Liu H B, Song W, Dong R Y. *China Pulp Pap.* (刘洪斌, 宋微, 董荣业. 中国造纸), **2010**, 29 (2): 22–24.

(责任编辑: 丁 岩)