ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Hoàng Anh Đức

NGHIÊN CỨU, PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH, XÁC ĐỊNH TUỔI MỰC BÚT BI XANH TRÊN GIẤY

Chuyên ngành: Hóa phân tích
Mã số: 9440112.03

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

HÀ NỘI - 2023

Công trình được hoàn thành tại:

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên Hà Nội,

Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS.TS. Từ Bình Minh

2. PGS.TS. Hoàng Mạnh Hùng

Phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Khôi

Phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Huệ

Phản biện: PGS.TS. Trần Thu Hương

Luận án đã được bảo vệ trước Hội đồng cấp ĐHQG chấm luận án tiến sĩ họp tại: Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN vào hồi giờ phút, ngày tháng năm 2023

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm Thư viện và Tri thức số, Đại học Quốc gia Hà Nội

MỞ ĐẦU

Chữ viết – một trong những đặc điểm đặc trưng của loài người ra đời từ đầu thời kỳ đồ đồng (khoảng cuối thiên niên kỷ thứ 4 trước công nguyên - 4000 BC). Khởi nguồn từ những hình vẽ biểu tượng tiền ký tự của thời kỳ đồ đá mới, chữ viết dạng ban đầu này được khắc trên đá, đất sét, bản ghi bằng đồng, mu rùa hay thẻ xương động vật. Đến khoảng năm 3200 BC, con người phát minh ra mực, kèm với các dụng cụ viết và vật liệu để ghi chép lại lịch sử [32]. Mực được định nghĩa là một chất dạng lỏng, bột nhão hoặc rắn có chứa chất nhuộm màu và các chất phụ gia. Loại mực đầu tiên được ghi chép lại trong lịch sử xuất hiện ở Trung Quốc và Ai Cập vào khoảng những năm 2500-3200 BC, được làm từ muội than trộn lẫn và nghiền kỹ với hồ, cao su tự nhiên, lòng trắng trứng hoặc gelatin từ da và xạ hương tiết ra từ động vật (tiền thân của mực Tàu ngày nay) [72,77].

Đến khoảng thế kỷ thứ 4 sau công nguyên, một loại mực phổ biến được ra đời bằng cách trộn muối sắt (II) sulfate với tannin chiết xuất từ mụn cây sồi (oak gallnut) và chất cô đặc khác – do đó được lấy tên là mực sắt-gallotannate, có những ưu điểm nổi trội như độ bền cao, không bị loang khi ướt và dễ sản xuất, do đó rất thông dụng từ thế kỷ thứ 5 đến thế kỷ thứ 19. Đến đầu thế kỷ 20, Laszlo Biro - một nhà biên tập báo người Hungary-Argentina với sự trợ giúp của anh trai của mình - nhà hóa học Gyorgy Biro đã phát triển thành công một công thức mực nhớt, kết hợp với cơ cấu bi trong ổ xoay ở đầu bút. Cơ cấu hoạt động này giúp cho mực ở trong ống bút không bị khô và dòng chảy của mực được ổn định. Bằng sáng chế của ông được cấp ở Anh năm 1938 và ở Argentina năm 1943. Mực bút bi gốc dầu ban đầu nay đã được phát triển và đa dạng hóa thành các loại mực đặc thù như mực gốc nước, mực hybrid khô nhanh cho người thuận tay trái, mực viết được trong chân không và dưới nước (độ nhớt cao, chứa trong ống mực đã tăng áp), mực tẩy được (làm từ xi măng cao su và rất đặc, phải dùng ống mực tăng áp để đẩy mực ra, tẩy được trong thời gian ngắn sau khi viết). Từ đó đến nay, bút bi

đã nhanh chóng trở thành loại bút được sử dụng phổ biến nhất trên thế giới. Năm 2005, công ty bút bi Bic đã đánh dấu mốc bán ra 100 tỉ bút bi tính từ ngày thành lập công ty năm 1950 [49]. Trong luận án này thuật ngữ "bút bi" sẽ được dùng để chỉ bút bi truyền thống (tức là bút ballpoint sử dụng mực gốc dầu/glycol – khác với bút rollerball sử dụng mực gốc nước). Mực viết dùng trong các loại bút sẽ được gọi tắt là mực trong nghiên cứu này, để phân biệt với mực in và mực dấu.

Thời gian viết của mực trên một văn bản là một vấn đề được quan tâm trong nhiều lĩnh vực như sử học, khảo cổ và khoa học hình sự. Đối với khoa học hình sự, tuổi mực là một trong những tiêu chí then chốt và tin cậy để xác định thời gian viết của tài liệu. Trong nhiều tranh chấp liên quan đến tính pháp lý của các loại giấy tờ như di chúc, bằng cấp, hợp đồng kinh tế, hóa đơn, biên nhận hay giấy chuyển nhượng, vấn đề thường xuyên được đặt ra với các tài liệu nghi làm giả là: "tài liệu này có được viết vào thời gian đúng như ghi trên giấy hay không?", "phần chữ viết/chữ ký này có được viết cùng thời gian với nội dung còn lại của tài liệu hay không?". Trong hầu hết các trường hợp giấy tờ bị làm giả, không có khả năng xác định thời gian viết của văn bản bằng các phương pháp phân tích truyền thống. Các câu hỏi này đặt ra nhu cầu xác định thời gian viết của mực trên văn bản nghi vấn, vấn đề này đã và vẫn đang là một vấn đề hóc búa với khoa học hình sự trên thế giới nói chung và là một vấn đề hoàn toàn mới ở Việt Nam nói riêng.

Hiện tại lĩnh vực xác định tuổi mực ở trên thế giới mới chỉ có ở một số ít nước có trình độ khoa học phát triển như ở Hoa Kỳ, Đức, Anh, Tây Ban Nha, Brazil, mới đây ở Trung Quốc, còn ở Việt Nam cho đến nay hầu như chưa có công trình nghiên cứu khoa học cơ bản nào về xác định tuổi mực để làm cơ sở xây dựng một quy trình thường nhật có độ tin cậy cao áp dụng trong lĩnh vực khoa học hình sự, do đó đề tài luận án Tiến sĩ "**Nghiên cứu, phát triển phương pháp phân tích, xác định tuổi mực bút bi xanh trên giấy"** được đề xuất với mục tiêu: nghiên cứu, phát triển và hoàn thiện các

bước xác định tuổi mực bút bi xanh để áp dụng cho các sự việc thực tế ở Việt Nam. Để đạt được mục tiêu trên, luận án cần thực hiện các nội dung nghiên cứu sau:

1. Thực nghiệm chọn các điều kiện và xây dựng quy trình phù hợp cho phân loại, phân biệt sơ bộ mực bút bi xanh bằng các phương pháp hòa tan – khuếch tán và HPTLC.
2. Xây dựng các phương pháp HPTLC và GC-MS cho xác định tuổi mực tương đối.
3. Xây dựng các phương pháp quang phổ tán xạ Raman và UPLC-QTOF-MS cho xác định tuổi mực tuyệt đối.
4. Xây dựng sơ đồ các bước xác định tuổi mực bút bi xanh và đánh giá hiệu quả ứng dụng quy trình cho các sự việc thực tế đã giải quyết.

❖ **Điểm mới về mặt khoa học và ý nghĩa thực tiễn của luận án**

✓ **Điểm mới của luận án**

- Phát triển thành công hệ dung môi triển khai HPTLC mới tối ưu cho phân tích mực bút bi xanh với lực phân biệt cao, độ phân giải tốt và thời gian triển khai ngắn, từ đó ứng dụng được phương pháp HPTLC vào xác định tuổi mực tương đối.

- Kiểm chứng và ứng dụng thực tế thành công các phương pháp quang phổ tán xạ Raman, UPLC-QTOF-MS cho xác định tuổi mực tuyệt đối với sai số về thời gian tương đương với các kết quả nghiên cứu trên thế giới (từ 1-6 tháng).

✓ **Ý nghĩa thực tiễn của luận án**

Đề xuất sơ đồ các bước xác định tuổi mực phù hợp với điều kiện thực tế ở Việt Nam, quy trình đã được ứng dụng có hiệu quả để đáp ứng một số sự việc liên quan đến tuổi mực ở Việt Nam trong các năm từ 2018-2022.

❖ **Bố cục luận án:**

Luận án gồm 109 trang với 57 hình và 36 bảng, trong đó: Lời mở đầu 3 trang, Tổng quan 34 trang, Thực nghiệm 20 trang, Kết quả và thảo luận 50 trang, Kết luận 2 trang. Luận án sử dụng 99 tài liệu tham khảo.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Khái niệm và tổng quan về xác định tuổi mực

Xác định tuổi mực (GĐTM) là một thuật ngữ chuyên môn trong khoa học hình sự miêu tả quá trình xác định thời gian tồn tại của một loại mực cần phân tích trên nền vật liệu – được coi là phương pháp có độ tin cậy cao trong việc xác định tuổi tài liệu. Xác định tuổi mực được chia làm hai nhóm chính – tương đối và tuyệt đối. Tuổi mực tương đối là khái niệm được dùng khi cần xác định hai đoạn nội dung trong cùng một văn bản (hoặc được viết bằng cùng loại mực trên hai văn bản khác nhau) có được viết cùng một thời gian hay đoạn nào được viết trước. Tuổi mực tuyệt đối là khái niệm chỉ thời gian viết cụ thể theo ngày tháng của tài liệu cần phân tích.

1.2. Hiện trạng xác định tuổi mực

Xác định tuổi mực trong khoa học hình sự thế giới được nhắc đến lần đầu tiên vào những năm 1920, nhưng phải đến cuối những năm 1980 mới có các nghiên cứu đầu tiên về tuổi mực bút bi. Trong thời kỳ đầu này các nghiên cứu về tuổi mực bút bi chủ yếu dựa vào thời gian phát minh của các loại mực bút bi. Bước tiến tiếp theo trong lịch sử xác định tuổi mực là "nhãn hóa học" (chemical tags) - các chất hóa học đặc trưng cho các năm sản xuất khác nhau được các nhà sản xuất thêm vào từng mẻ mực, được khởi xướng bởi Richard Brunelle và Antonio Cantu năm 1975 tại Cục quản lý Rượu, Thuốc lá và Vũ Khí của Hoa Kỳ. Các nhãn hóa học phổ biến được sử dụng trong các mẻ mực là phức chất của các nguyên tố đất hiếm và chất làm trắng quang học. Sau thời kỳ này, Richard Brunelle đồng tác giả hai cuốn sách năm 1984 và năm 2003 về tuổi mực, tạo nền tảng cơ sở cho nhiều nghiên cứu xác định tuổi mực sau này. Tòa án Hoa Kỳ bắt đầu chấp nhận kết quả xác định tuổi mực như một chứng cứ pháp lý khi xét xử từ những năm 1980, sau nhiều tranh luận nhằm chứng minh giá trị khoa học và giá trị pháp lý của tuổi mực như một chứng cứ khoa học trước tòa.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu đầu tiên về mực xuất hiện năm 1995 trong đề tài khoa học cấp nhà nước, dựa trên các kết quả nghiên cứu này VKHHS đã lần đầu tiên tiến hành xác định tuổi mực theo yêu cầu của Tòa án nhân dân

tỉnh Quảng Nam - Đà Nẵng trong cùng năm. Năm 2011, Trung tâm tư vấn, giám định dân sự ra đời và là tiên phong trong các nghiên cứu về xác định tuổi mực với một số bài báo khoa học và báo cáo hội nghị trong và ngoài nước, tuy vậy còn thiếu các nghiên cứu khoa học cơ bản về bút bi và tuổi mực nói chung.

1.3. Tổng quan về mực bút bi xanh

Mực bút bi xanh (BBX) là một loại huyền phù dạng hồ nhão, trong đó khoảng 25% là chất tạo màu, 50% dung môi, 25% nhựa (resin) và khoảng 1% các chất phụ gia khác như chất bôi trơn, chất diệt khuẩn, chất hoạt động bề mặt, chất điều chỉnh pH... Khi viết lên giấy, xảy ra 3 quá trình chính: dung môi bay hơi và thấm vào giấy, phẩm màu phân hủy và resin polyme hóa; các phương pháp xác định tuổi mực đều xoay quanh 3 quá trình này.

1.4. Tổng quan về các phương pháp nhận dạng, phân loại và xác định tuổi mực bút bi

Ngoài các đặc trưng có thể nhận dạng cảm quan bằng các phương pháp quang học thông thường, mực bút bi còn được nhận dạng bằng thiết bị so sánh phổ hình ảnh VSC, IR, TLC. Sau đó mực bút bi được phân loại và phân biệt bằng các phương pháp phá hủy mẫu như hòa tan – khuếch tán, HPTLC, CE, ESI-MS, LDI-MS, UV-Vis, Orbitrap-MS hoặc các phương pháp không phá hủy mẫu như TOF-SIMS, FTIR, XRF, PS-MS, Raman, LIBS, DSA-MS, IR-MS, thiết bị so sánh phổ hình ảnh VSC và ảnh kỹ thuật số chụp bằng iPhone.

Dung môi còn lại trong mực (đối tượng nghiên cứu chủ yếu là 2-PE) được định lượng nhằm xác định mối tương quan với thời gian viết chủ yếu bằng GC-MS với các kỹ thuật chiết tách khác nhau. Phẩm màu là đối tượng chính của phần lớn nghiên cứu về tuổi mực, trong đó tím tinh thể (CV) là phẩm màu phổ biến nhất trong mực bút bi, do đó các phương pháp chiết tách được sử dụng kết hợp với MS/chemometrics bao gồm HPLC-DAD, UVVis, CZE/MEKC và quang phổ Raman. Quá trình resin polyme hóa chỉ được đánh giá qua tỷ lệ chiết của phẩm màu trong thời kỳ đầu, cho đến năm 2021 mới có đề tài nghiên cứu đi sâu vào bản chất hóa học của chúng.

Chương 2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

- *Chất chuẩn:* hóa chất và dung môi thí nghiệm của hãng Merck, Sigma-Aldrich, BDH, Kanto Chemical và Dr.Ehrenstorfer. Chất màu và dung môi chuẩn: 2-PE: 99,8 %; Crystal violet (CV): 92,2 %; basic red 9 (pararosaniline): 77,9 %; Acid blue 1: 69,0%; Victoria blue: 73,0 %, basic violet 1 (MV, pentamethyl pararosaniline): 47,5 %.
- *Dụng cụ*: bản mỏng silicagel 60 F_{254} Merck, mao quản 20 µl Brauband intraMark, các dụng cụ phòng thí nghiệm cơ bản (ống đong, micropipet, bình định mức), vial sắc ký, đầu lọc PTFE 0,2 µm, insert sắc ký 350 µl
- *Thiết bị:* hệ máy HPTLC CAMAG IV với phần mềm WinCATS; hệ máy GC-MS Agilent 7896B; các thiết bị quang phổ Raman: inVia Renishaw với bước sóng 633 nm, LabRAM HR800 HORIBA với bước sóng laser 633 nm, LabRAM HR Evolution HORIBA với bước sóng 532 nm và 785 nm, Nicolet 6700 và NXT FT-Raman module Thermo Finnigan (hồng ngoại và Raman) với bước sóng 1064 nm (nay đã hỏng); hệ máy UPLC-QTOF-MS của hãng AB Sciex Canada gồm: UPLC Exion Sciex ghép nối QTOF-MS AB Sciex 500 và phần mềm SCIEX OS.

2.2 Đối tượng nghiên cứu

79 loại BBX nội và ngoại được mua tại các cửa hàng văn phòng phẩm trên địa bàn Hà Nội, được viết từ 2014 đến nay. Ngoài ra còn có các mẫu mực BBX lưu trữ từ năm 1997 và các mẫu thực do các cơ quan gửi đến.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp hòa tan – khuếch tán

Phương pháp hòa tan - khuếch tán xác định sự khác biệt về độ tan của mực trong dung môi hay khả năng chiết tách của mực ra khỏi giấy để so sánh thành phần mực và ước lượng tuổi mực tương đối của mẫu cần phân tích so với hai hoặc nhiều mẫu so sánh (MSS) cùng loại đã biết thời điểm viết. Phương pháp này chú trọng xác định khả năng hòa tan - khuếch tán màu ra dung dịch, màu và độ bền phẩm màu của mực trong dung dịch, tốc độ và giới

hạn mất màu của dung dịch, độ bám dính của mực vào giấy trong một đơn vị thời gian khi hòa tan bằng một dung môi phù hợp.

2.3.2. Phân loại, phân biệt các loại mực bút bi bằng HPTLC

Các bước phân tích mực bằng HPTLC bao gồm chuẩn bị bản mỏng silicagel hãng Merck, được hoạt hóa ở 70-80 C^0 trong 14 phút, bình triển khai được bão hòa với dung môi triển khai trong ít nhất 30 phút. Đục và chiết 15-20 đục giấy có chứa mực trong 15-20 µl hỗn hợp dung môi chiết, dùng mao quản hút hết hỗn hợp chiết và chấm lên bản mỏng, sấy nhẹ, đặt tấm bản mỏng vào bình đã bão hòa hệ dung môi triển khai. Tiêu chí đánh giá các thành phần mực trên bản mỏng: số lượng vết màu (trong ánh sáng thường và UV), màu sắc các vết màu, tỷ lệ cường độ màu các vết tương ứng, giá trị R_f của từng vết, mật độ quang.

2.3.3. Xác định tuổi mực tương đối bằng HPTLC

Khi lấy cùng một lượng mực của cùng một bút, được viết trên cùng loại giấy nhưng khác thời gian viết, sau đó chiết trong cùng một khoảng thời gian ngắn *t* sẽ thu được lượng mực nhiều hơn từ mẫu mực mới so với mẫu mực cũ. Nếu chấm các dung dịch chiết tương ứng này lên bản mỏng HPTLC, cường độ màu của vết phẩm màu trong ánh sáng thường của mẫu mới sẽ mạnh hơn mẫu cũ. Bên cạnh đó phẩm màu CV theo thời gian viết càng lâu thì lượng các sản phẩm phân hủy càng nhiều, dẫn đến cường độ màu của vết chính CV trên bản mỏng giảm đi và màu các vết phụ tăng lên. R_f của các vết màu tương ứng cũng có sự thay đổi theo thời gian, tuy vậy với thời gian viết khác nhau không đáng kể hoặc với một số hệ dung môi triển khai có độ phân giải không cao thì biến thiên R_f này khá nhỏ trong phạm vi sai số của phép đo.

2.3.4. Xác định tuổi mực tương đối bằng GC-MS

Luận án nghiên cứu thí điểm theo phương pháp của Aginsky 1994 về xác định dung môi trong mực, với mục đích tham khảo và kiểm chứng phương pháp qua 1 sự việc thực tế để đánh giá phương pháp cho mục đích hỗ trợ cho việc xác định tuổi mực mới viết trước 1 năm.

Quy trình thực nghiệm: giấy chứa mực so sánh được cắt 25cm x 3 mm, cắt nhỏ cho vào ống nghiệm, chiết lần lượt bằng dung môi chiết yếu CCl_4 và

dung môi chiết mạnh $CHCl_3$, lượng dung môi 2-PE chiết được được đo bằng diện tích peak MS, chia tỷ lệ $P=M_w/(M_w+M_s)$ và lập đồ thị biến thiên theo thời gian và kiểm tra với mẫu cần phân tích.

2.3.5. Xác định tuổi mực tuyệt đối bằng quang phổ tán xạ Raman

Phổ Raman được đo trực tiếp trên giấy chứa mực cần phân tích. Nguồn laser kích thích có các bước sóng 532 nm, 633 nm, 785 nm và 1064 nm. Công suất laser được thử nghiệm từ nhỏ đến lớn để tránh làm cháy mẫu. Phổ Raman thô được trừ nền giấy, kẻ đường nền 1 lần và làm trơn 3 lần trước khi đưa vào phân tích. Phương pháp có độ lặp lại và tái lập rất tốt, có sai số RSD% lần lượt dưới 0,87 % và 1,41 %.

Đồ thị phụ thuộc dạng đường cong suy biến theo thời gian của CV trong mực bút bi đưa ra bởi Gorshkova và cộng sự năm 2016 được khảo sát bằng tỉ lệ cường độ giữa các peak ở số sóng 729 cm^{-1} - thể hiện các dao động của các liên kết (C-N) kém bền nhất ở phía ngoài của phân tử, và peak ở số sóng 1587 cm^{-1} - thể hiện dao động của các liên kết $(C-C)_{vòng}$ bền nhất phía trong nhân của phân tử phẩm màu CV. Đồ thị này được khảo sát với mực bút bi xanh Việt Nam để kiểm chứng và xác định khả năng ứng dụng thực tế.

2.3.6. Xác định tuổi mực tuyệt đối bằng UPLC-QTOF-MS

Các bước xác định tuổi mực bằng UPLC-QTOF-MS:

- Bước 1: Đục 5 đục mỗi mẫu so sánh và mẫu cần phân tích bằng dụng cụ đục đường kính trong 0,9 mm, chiết trong ống nghiệm bằng methanol, lọc qua đầu lọc syringe PTFE 0,2µm rồi đưa vào vial sắc ký kích cỡ 1,5 ml.
- Bước 2: Đưa các vial vào chạy phân tích UPLC-QTOF-MS. Trường hợp mực cần phân tích không chứa CV thì chuyển sang sử dụng phương pháp khác (chạy thử 1 mẫu mực cần phân tích trước để khẳng định có CV hay không).
- Bước 3: Cường độ các peak đại diện cho CV, MV và TP được đo đạc, chia tỉ lệ CV/(CV+MV+TP).
- Bước 4: Khảo sát biến thiên theo thời gian viết của tỉ lệ CV/(CV+MV+TP) của mẫu cần phân tích và các mẫu so sánh, từ đó đưa ra kết luận về tuổi mực và sai số cho phép dựa trên các mẫu so sánh có được.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân loại và phân biệt mực bút bi xanh

3.1.1. Phương pháp hòa tan - khuếch tán

3.1.1.1. Đánh giá phương pháp

Sự biến đổi màu của mực có độ lặp lại trong cùng ngày tương đối tốt, độ tái lập của mực trong 3 ngày khác nhau tương đối tốt, màu bám giấy sau khô cũng xấp xỉ giống nhau.

❖ *Khảo sát lượng mẫu tối ưu*: 1 đục giấy có mực là tối ưu.

3.1.1.2. Nhận xét mực còn bám trên giấy sau khi khô

Có 2 xu hướng: mực bám trên giấy sau khi khô càng mới thì càng nhạt dần, hoặc ngược lại mực mới bám trên giấy chắc hơn, ít hòa tan hơn so với mực cũ, nên màu đậm hơn mẫu viết cũ, ít loang ra dung dịch. Độ bám dính của màu BBX vào giấy phụ thuộc vào nhiều điều kiện như đã nêu trên.

3.1.1.3. Độ hòa tan – khuếch tán và sự thoái biến màu của mực

Với phần lớn các loại mực bút bi, CV là thành phần màu chủ đạo, do đó mực viết càng mới thì khả năng hòa tan, khuếch tán ra dung môi càng nhanh, nhưng độ bền kém hơn, thoái biến cũng nhanh hơn, vì dưới tác dụng của ánh sáng và oxy trong không khí, CV khi hòa tan ra dung dịch sẽ bị oxy hóa trong dung dịch nhanh hơn trạng thái rắn (mực đã khô), chuyển hóa thành các dẫn xuất demethyl, các dẫn xuất có càng ít nhóm methyl thì màu càng nhạt đi hoặc có sự chuyển hóa thành đồng phân leuco không màu.

Ngược lại, một số ít loại mực chứa chất màu gốc phthalocyanin dạng phức không tan hoặc dạng muối phthalocyanin tan trong dung môi, một mặt do ái lực bám dính vào giấy mạnh, mặt khác do chất màu có phân tử lượng cao, nên khả năng tồn tại trên giấy khi khô là tương đối bền hơn nhóm màu triarylmethan. Ngoài ra có thể có các giả thuyết khác như số ít loại mực này chứa thành phần nhựa (resin) khác biệt, bền hơn khi mới viết, tạo thành một lớp màng trên bề mặt giấy khiến cho phẩm màu trong mực mới này khó bị chiết ra hơn mực cũ.

3.1.1.4. Khả năng định hướng thời gian viết qua quá trình HT-KT

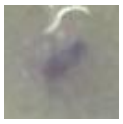
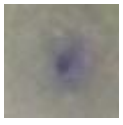
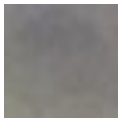
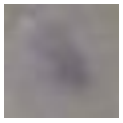
Thực nghiệm cho thấy mực viết cách nhau 1-2 tháng khó nhận biết sự khác biệt trong quá trình hòa tan – khuếch tán – thoái biến (Bảng 3.1). Tuy vậy mực viết cách nhau từ 3 tháng trở lên đã có thể nhận biết sự khác biệt về màu khi hòa tan trong dung môi gốc cồn, khác biệt rõ ràng khi viết cách nhau một năm trở lên. Ví dụ trong bảng 3.1: mẫu cần phân tích A1.9 trong sự việc thực tế được so sánh với MSS được viết trong 4 năm từ 2014 đến 2017. Mẫu này khi so sánh cho thấy có quá trình hòa tan – khuếch tán tương tự mẫu so sánh được viết trong năm 2016, khác với các mẫu so sánh còn lại trong năm 2014, 2015 và 2017. Từ đó có thể định hướng sơ bộ được mẫu A1.9 có khả năng cao được viết trong thời gian gần với năm 2016.

Bảng 3.1 Mực BBX thay đổi sau 3, 9 và 15 phút hòa tan với dung môi gốc cồn

	4/6/ 14	**21/8/ 14**	**20/10/ 14**	**29/12/ 14**	**A1.9**	**28/1/ 15**	**25/5/ 15**	**25/5/ 16**	**3/2/ 17**
3 phút									
9 phút									
15 phút									

Bảng 3.2 cho thấy sự thay đổi màu trong dung dịch và khả năng màu mực bám vào giấy với mực BBX có thành phần màu chủ đạo là phẩm màu nhóm triarylmethan.

Bảng 3.2. Phản ứng hòa tan - khuếch tán của một số BBX Việt Nam được viết tháng 02/2017 và tháng 05/2017

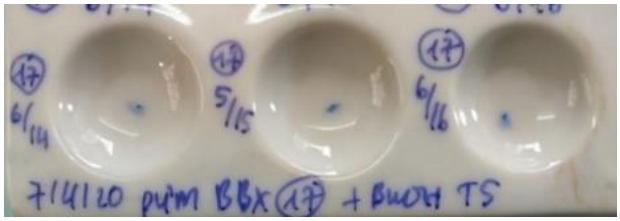
STT	Ký hiệu	Brand & Model	Màu dung dịch sau 3 phút		Nhân giấy	
			02/17	05/17	02/17	05/17
1	BBX3	Bến Nghé BT-5				
2	BBX4	Bến Nghé D-24				
3	BBX8	Bến Nghé B-30				
4	BBX5	Raddar				
5	BBX7	Thiên Long TL-027				
6	BBX12	Thiên Long Buttergel				
7	BBX25	G-Star 03A				
8	BBX16	TL-079				

Bảng 3.3 điều kiện thực nghiệm như bảng 3.2 nhưng với các BBX nhập ngoại có chứa phức phthalocyanin đồng hoặc muối tan của phức này, do đó khó hoặc không bị hòa tan bởi nhiều loại dung môi so với mực chứa phẩm màu CV như đã giải thích ở trên.

Bảng 3.3. Màu dung dịch và nhân màu trên giấy của một số BBX nhập ngoại được viết tháng 02 và tháng 05/2017

STT	Ký hiệu	Brand & Model	Màu dung dịch sau 3 phút		Màu nhân giấy	
			02/17	05/17	02/17	05/17
1	BBX10	Stabilo				
2	BBX9	Luxor				
3	BBX11	Luxor				
4	BBX18	LINC				
5	BBX20	CELLO Unic				

Thực nghiệm 3 mẫu BBX17 viết cách nhau xấp xỉ 1 năm cho thấy mực viết càng cũ nhân hòa tan dung môi càng khó và ít hơn (Hình 3.6), ngoài ra BBX18 có nhân màu xanh không bị thoái biến màu và còn lại rõ nét sau khi dung môi khô, khả năng cao là của chất màu có chứa phthalocyanin đồng (Hình 3.7).



Hình 3.6. BBX17 được viết tháng 06/2014, 05/2015 và 06/2016

Hình 3.7. BBX18 thành phần mực chứa cả phthalocyanin đồng và phẩm màu triarylmethan - mực viết dễ hòa tan vào dung môi và vẫn để lại màu trên giấy.

❖***Sơ bộ kết luận phản ứng HT-KT***: phương pháp đã định hướng được mẫu cần phân tích để chọn các loại mẫu so sánh có thành phần mực tương tự và xác định sơ bộ được khoảng thời gian viết gần hay cách xa thời gian đã đề trên tài liệu cần phân tích. Phương pháp có ưu điểm là chỉ cần 1 lượng mẫu rất nhỏ, thao tác đơn giản và có thể thu hẹp được số lượng mẫu so sánh về loại mực và năm viết tương tự. Tuy vậy vẫn còn nhiều hạn chế vì đây là phương pháp định tính và cần một thư viện mực với nhiều loại mực so sánh.

3.1.2. Xây dựng phương pháp HPTLC để phân loại mực bút bi xanh

3.1.2.1. Nghiên cứu các điều kiện tối ưu phân loại, phân biệt mực bút bi xanh bằng HPTLC

- *Khảo sát giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phẩm màu*

LOD của mực TL-025 là ≈ 3 đục và LOQ ≈ 15 đục (xấp xỉ do HPTLC là phương pháp bán định lượng).

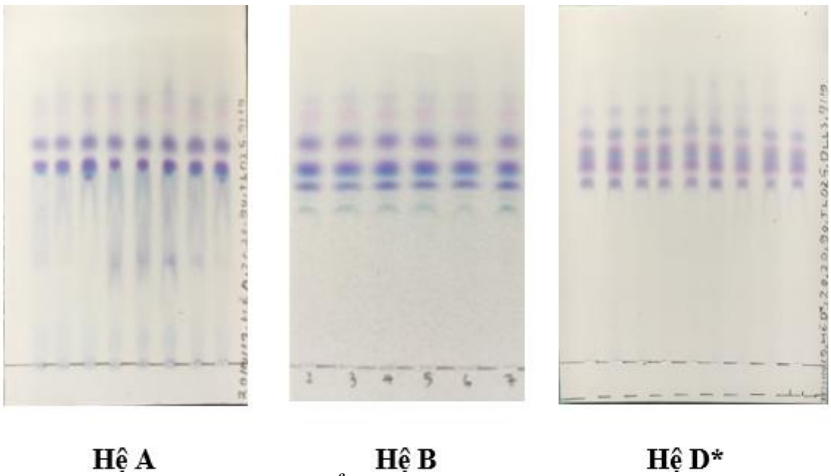
- *Nghiên cứu phát triển hệ dung môi triển khai mới cho mực bút bi xanh:*

Luận án sử dụng các thành phần dung môi có sẵn của các hệ dung môi đã công bố, thêm các dung môi có độ phân cực khác nhau và dựa theo khả năng trộn lẫn giữa chúng theo lược đồ tối ưu hóa hệ dung môi động của CAMAG - "Schematic for optimization of mobile phase guidelines". Qua nhiều thí nghiệm với các tỉ lệ khác nhau rút ra được khi chọn các thành phần tương tự như hệ D với tỉ lệ cố định ở 14/5/4 và thêm butanol/isopropanol cùng thể tích thì sẽ cho độ phân giải tốt nhất (Hình 3.8). Thực nghiệm với các tỷ lệ butanol/isopropanol và thêm ethyl acetat trong hệ mới này cho thấy hệ D* có tỷ lệ ethyl acetat/butanol/isopropanol/ethanol/H_2O tỷ lệ 14/2/2/5/4 v/v là hệ dung môi tối ưu (so với các hệ D_o, D_1, D_2 – Hình 3.9), với 6 vết tách biệt, không chồng lấn và cường độ màu rõ rệt hơn 3 hệ còn lại, do đó D* được chọn là hệ dung môi tối ưu cho phân tích mực bút bi. Trên nguyên

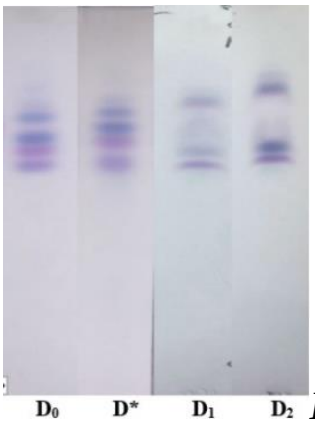
lý như vậy đề tài đã chọn các tỷ lệ thành phần dung môi thích hợp để phát triển hệ dung môi thứ hai là H7. Ưu nhược điểm của các hệ mới phát triển và các hệ truyền thống (A, B, C, D) được so sánh với hệ D* trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Ưu/nhược điểm các hệ triển khai HPTLC cho phân tích mực BBX

Tên hệ	**Ưu điểm**	**Nhược điểm**
Hệ A	Tách khá 3 vệt	Vệt kéo dài, chồng lấn, khó đo R_f chính xác, triển khai chậm 120 phút
Hệ B	Tách khá 3 - 4 vệt, vệt sắc nét	Vệt gần nhau, R_f khó so sánh, triển khai chậm 120 phút
Hệ C	Tách khá, 3 vệt cách xa nhau, R_f khác biệt rõ rệt	Thời gian triển khai chậm 90 phút
Hệ D	Tách khá tốt – 4 vệt, vệt rõ nét	Vệt lên cao và độ phân giải kém
Hệ D*	Tách tốt 5-8 vệt, vệt sắc nét không kéo dài, thời gian triển khai nhanh 60 phút	R_f sai khác nhỏ, cần kết hợp các phương pháp khác để nhận định tuổi mực.



Hình 3.9 Triển khai mực bút bi xanh TL-025 trong các hệ A, B và D



Hình 3.10 Triển khai mực bút bi xanh TL-025 trong các hệ D0, D, D1, D2*

- *Lựa chọn dung môi chiết:*

Do độc tính của hầu hết các dung môi chiết mẫu được sử dụng trong các nghiên cứu TLC đã công bố như pyridine, chloroform, methanol, CCl_4, acetonitril không phù hợp với môi trường phòng thí nghiệm nhỏ, nghiên cứu sử dụng dung môi chiết an toàn hơn là hỗn hợp ethanol/H_2O/aceton (10/10/2 v/v) có hiệu quả chiết tương đương methanol.

3.1.2.2. Đánh giá phương pháp HPTLC

Phương pháp HPTLC: bút cùng model có độ đồng nhất cao với R_f có RSD% ≤ 1,3%, xác định được LOD, LOQ của phương pháp, độ lặp lại và độ tái lập cao với R_f có RSD% lần lượt ≤ 2,5% và ≤ 4,5%.

3.1.2.3. Ứng dụng phân biệt các mực bút bi xanh bằng HPTLC

10 loại bút bi của 2 hãng Thiên Long và Bến Nghé (TL-08, Bmaster B-01, TL-025, TL-027, TL-032, TL-036, TL-049, TL-079, D-24, B-30) được phân biệt bằng phương pháp HPTLC trong các hệ A, B và D*. Khái niệm được sử dụng để đánh giá khả năng phân biệt được gọi là Lực phân biệt (*Discriminating Power – DP*), được định nghĩa là tỉ lệ giữa số cặp bút có thể phân biệt được trên tổng số cặp bút có thể so sánh. Số cặp bút có thể so sánh được từ n bút cho trước:

Số cặp bút có thể so sánh = n(n – 1)/2 *[Phương trình 3.1]*

Số cặp bút có thể so sánh từ 10 bút Thiên Long và Bến Nghé: 10 x (10-1) / 2= 45. Kết quả phân biệt: trong 45 cặp so sánh có 4 cặp không phân biệt được bằng hệ D*: (Bmaster B-01, TL-025), (Bmaster B-01, TL-027), (TL-025, TL-027), (D-24, B-30).

Lực phân biệt khi chỉ sử dụng hệ D*: DP1 = (45-4)/45 = 41/45 = 91,1%

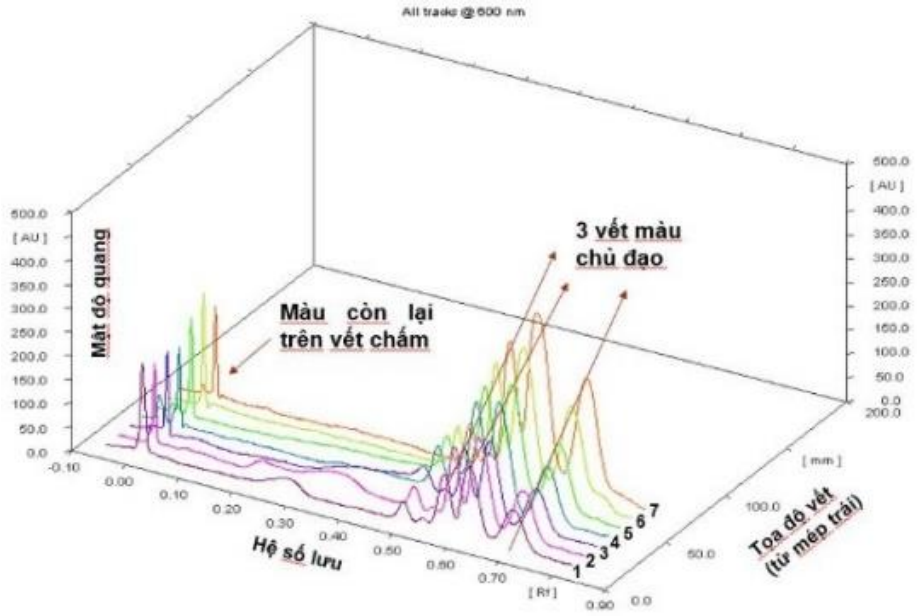
Kết hợp kết quả triển khai hệ D* với hai hệ dung môi truyền thống A và B, kết quả phân biệt đã nâng lực phân biệt lên: DP2 = (45-1)/45 = 44/45 = 97,8%

3.2. Xác định tuổi mực tương đối

3.2.1. Phương pháp HPTLC đánh giá tỷ lệ các sản phẩm phân hủy của CV

3.2.1.1. Xác định tuổi mực tương đối bằng mật độ quang của vết màu bản mỏng:

Thực nghiệm với mực bút bi TL-036 cho thấy các mẫu cùng một loại mực nếu được viết cách nhau thời gian từ 3 tháng trở lên có thể thấy được sự khác biệt trên phổ mật độ quang khi quét bằng densitometer (Hình 3.18)



Hình 3.18. Phổ mật độ quang của các thành phần mực trên bản mỏng TLC

∗ *Chú thích:* Thời gian viết của các mẫu theo thứ tự từ 1 → 7: 05/2017, 07/2018, 10/2018, 01/2019, 04/2019, 07/2019, 10/2019 (tương ứng với tuổi mực lần lượt là 29, 15, 12, 9, 7, 3 và 1 tháng tuổi – tại thời điểm đo ngày 23/10/2019).

∗ *Nhận xét phổ mật độ quang:* Các vết màu chủ đạo thể hiện dưới dạng peak mật độ quang. Theo thời gian viết mới dần, mật độ quang của các vết màu trong mực tăng lên rõ rệt, R_f của các vết màu có xu hướng giảm (với biên độ biến thiên nhỏ) → mở ra tiềm năng ứng dụng chemometrics để xác định tuổi mực tuyệt đối nếu có số lượng lớn mẫu so sánh.

3.2.1.2. Thử nghiệm xác định tuổi mực tương đối với hệ số lưu R_f:

Thực nghiệm triển khai trong hệ D* với mực TL-036 với các thời gian viết khác nhau và mẫu Unknown TL-036, kết quả so sánh cho kết luận mẫu Unknown (cột số 8) có khả năng được viết trong khoảng tháng từ tháng 4/2019 (cột 6) đến tháng 7/2019 (cột 7). Mẫu kiểm chứng Unknown được viết thực tế trong tháng 07/2019. Tiếp tục thực hiện triển khai trong hệ A với cùng các mẫu trên để kiểm chứng mẫu Unknown cũng cho kết quả mẫu Unknown được viết trong khoảng từ tháng 04 đến tháng 07 năm 2019 (Bảng 3.11 và Bảng 3.12).

Bảng 3.11. Giá trị R_f trong hệ D của các vết màu chính mực BBX TL-036*

STT	Thời gian viết (tuổi mực)							
	05/ 2017	**07/ 2018**	**10/ 2018**	**01/ 2019**	**04 /2019**	**07/ 2019**	**10/ 2019**	**Unknown**
1	0,543	0,539	0,540	*0,549*	***0,539***	***0,538***	*0,537*	***0,547***
2	0,576	0,583	0,575	*0,583*	***0,583***	***0,574***	*0,574*	***0,576***
3	0,601	0,606	0,604	*0,617*	***0,610***	***0,604***	*0,603*	***0,605***
4	0,637	0,643	0,631	*0,645*	***0,645***	***0,639***	*0,630*	***0,640***
5	0,680	0,675	0,675	*0,686*	***0,684***	***0,674***	*0,635*	***0,674***

Bảng 3.12. Giá trị R_f trong hệ A của các vết màu chính mực BBX TL-036

STT	Thời gian viết							
	05/ 2017	**07/ 2018**	**10/ 2018**	**01/ 2019**	**04/ 2019**	**07/ 2019**	**10/ 2019**	**Unknown**
1	0,222	0,200	0,200	***0,177***	***0,189***	***0,274***	***0,298***	***0,190***
2	0,522	0,522	0,524	***0,424***	***0,455***	***0,522***	***0,524***	**-**
3	0,578	0,580	0,581	***0,564***	***0,574***	***0,582***	***0,589***	***0,580***

Kết quả triển khai của 2 hệ cho kết luận đồng nhất về tuổi mực tương đối với sai số dưới 3 tháng, tuy vậy sai khác của R_f theo thời gian rất nhỏ nên cần kết hợp kết quả của 2 hoặc 3 hệ dung môi triển khai khác nhau để kết luận được về thời gian viết của mực. Ngoài ra cần kết hợp thêm các phương pháp hoá lý khác hiện đại hơn để khẳng định như GC-MS, HPLC-MS... để kiểm chứng lại.

3.2.2. Phương pháp GC-MS xác định lượng dung môi 2-PE còn lại trong mực

3.2.2.1. Khảo sát giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của 2-PE:

LOD của phương pháp ≈ 2 cm giấy và LOQ ≈ 5cm giấy (ước lượng tương đối do chưa tính đến các yếu tố độ rộng và độ đậm nhạt của nét mực)

3.2.2.2. Xác định lượng dung môi 2-PE chiết được qua 2 lần chiết liên tiếp

Các phương pháp xác định tuổi mực bằng định lượng dung môi đều có nhược điểm rõ rệt là giới hạn về tuổi mực xác định được quá ngắn không phù hợp với đa số các sự việc thực tế ở Việt Nam (dưới 1 năm tuổi, trừ một vài báo cáo cho kết quả khả quan hơn đến 2 năm tuổi), do vậy nghiên cứu chỉ thực hiện thí điểm theo phương pháp của Aginsky và cộng sự trong báo cáo năm 1994 với mục đích tham khảo và kiểm chứng độ tin cậy của phương pháp này. Các mẫu BBX TL-025 từ 1-12 tháng tuổi được chiết lần lượt bằng dung môi chiết yếu và mạnh, lượng 2-PE chiết được được thể hiện bằng diện tích peak GC-MS, tính tỷ lệ $P= M_w/(M_s+M_w)$ (M: diện tích peak) và lập thành đồ thị. Đồ thị thu được có dạng logarit tương tự như báo cáo của Aginsky 1994 và Stewart 1985 tuy vậy kết quả có độ lệch đáng kể so với với ước lượng bằng đồ thị, do đó phương pháp này có độ tin cậy không cao. Kiểm chứng đồ thị biến thiên với mẫu Unknown (TL025 viết tháng 10/2020 - 3 tháng tuổi) cho ước lượng tuổi mực Unknown xấp xỉ 1,6 tháng - độ lệch 1,4

tháng so với tuổi thực. Sai số này có thể chấp nhận được so với kết quả các nghiên cứu chung về tuổi mực khác (sai số tối thiểu 3-4 tháng), tuy vậy là lớn so với phạm vi tuổi mực của các mẫu nghiên cứu qua dung môi (từ 1-12 tháng tuổi). Do vậy GC-MS chỉ được coi như một phương pháp bổ trợ với mẫu có tuổi mực dưới 1 năm tuổi.

3.3. Xác định tuổi mực tuyệt đối dựa trên thành phần phẩm màu CV

3.3.1. Phương pháp quang phổ Raman

3.3.1.1. Chọn điều kiện tối ưu đo phổ Raman của mực BBX trên giấy

Ba bước sóng 532, 633 và 785nm được chọn để nghiên cứu mực bút bi xanh. Hai điều kiện ảnh hưởng trực tiếp đến cường độ tán xạ và độ phân giải của phổ Raman được khảo sát bao gồm: cường độ nguồn laser kích thích (P) và thời gian tích phân (t). Kết quả khảo sát cho thấy chỉ có bước sóng 532nm phù hợp phân tích mực BBX, với cường độ thấp p = 0,01% (0,036mW) và thời t=150s cho khả năng thu được phổ và tỷ lệ S/N tốt nhất.

3.3.1.2. Kiểm chứng đồ thị phụ thuộc thời gian của tỷ lệ peak 729 cm^{-1} và 1580 cm^{-1} theo mô hình của Gorshkova với BBX Việt Nam

Các mẫu bút bi TL-025 với thời gian viết khác nhau được đo mỗi mẫu 3 điểm và chọn điểm có tỷ lệ S/N cao nhất làm đại diện. Mỗi điểm được đo 3 lần, trung bình tỷ lệ cường độ peak ở 729 và 1580 cm^{-1} của 3 phổ đồ mỗi lần đo được chọn làm kết quả đại diện của mỗi mẫu. Đồ thị phụ thuộc thời gian của tỷ lệ peak 729/1580 có dạng đường cong bậc 5, tương tự với đồ thị đưa ra bởi Gorshkova 2016, với 1 cực đại ở t ≈ 11 tháng và 1 cực tiểu ở t ≈ 40 tháng. Khác biệt rõ rệt về giá trị tuyệt đối của tỷ lệ peak 729/1580 còn có thể do ảnh hưởng của các thành phần khác trong mực nghiên cứu, nhưng không ảnh hưởng đến cơ chế phân hủy của CV, do vậy dạng đồ thị không có sự khác biệt đáng kể ngoài độ dốc của đồ thị sau thời gian 70 tháng, cần nhiều mẫu kiểm chứng hơn.

3.3.2. Phương pháp UPLC-QTOF-MS

3.3.2.1. Xây dựng thư viện mực bút bi xanh cho xác định tuổi mực

Thư viện mực BBX được tạo mẫu một cách hệ thống với 77 loại bút bi xanh (nội địa và nhập ngoại) như đã miêu tả trong mục 2.2.

3.3.2.2.Khảo sát LOD và LOQ của phương pháp đối với CV

LOD = 0,011 $ng.ml^{-1}$, LLOQ = 0,037 $ng.ml^{-1}$, nồng độ CV và diện tích peak MS có quan hệ tuyến tính trong khoảng từ 0,5 $ng.ml^{-1}$ đến 200 $ng.ml^{-1}$ ($r^2 \geq 0,998$).

3.3.2.3 Độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp

Đại lượng tỉ lệ diện tích peak giữa CV và các sản phẩm phân hủy (MV và TP) không phụ thuộc vào khối lượng, có độ lặp lại cao với RSD ≤ 3,55% và độ tái lập cao với RSD ≤ 3,80%.

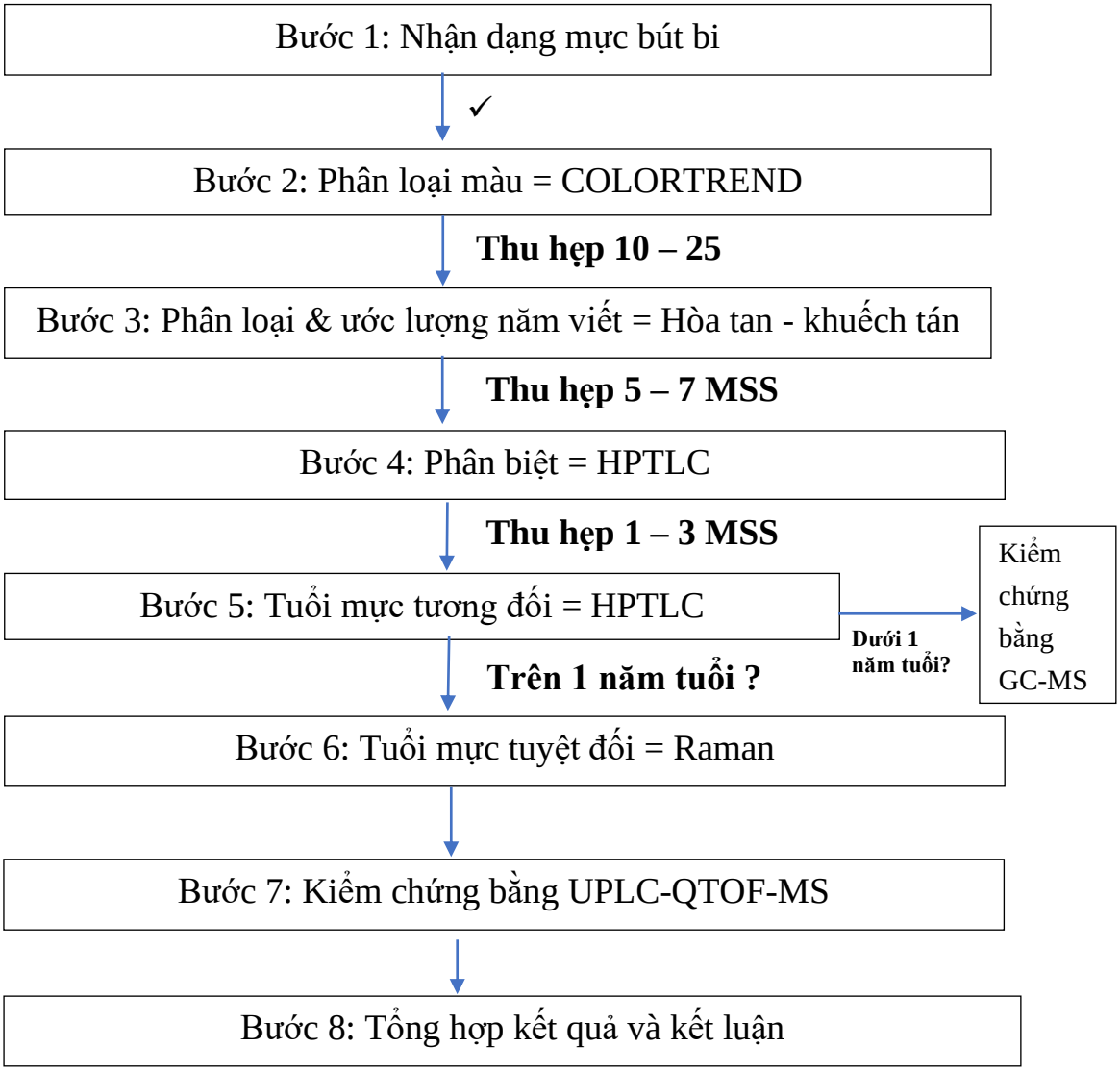
3.3.2.4. Thiết lập đồ thị phụ thuộc tỉ lệ CV/(CV+MV+TP) theo thời gian và kiểm chứng với mẫu thực

Các mẫu BBX TL-025 có tuổi mực từ 1 đến 79 tháng tuổi đã được đo và tính tỷ lệ của CV/(CV+MV+TP), lập đồ thị với phương trình đường chuẩn y = -0,0031x + 0,4009. Ứng dụng đường chuẩn này cho mẫu thực Unknown6, xác định được mẫu cần phân tích cho kết quả 13,5 tháng tuổi (sai số 4,5 tháng so với tuổi thực 18 tháng - viết tháng 7/2019). Kết quả này đồng nhất với các phương pháp khác, có sai số tương đương với phương pháp HPLC-DAD kết hợp GC-MS đã công bố quốc tế của Diaz-Santana et al. 2017 (0-4,5 tháng cho mực BBX).

3.4. Xây dựng sơ đồ các bước xác định tuổi mực và ứng dụng thực tế

3.4.1. Xây dựng sơ đồ các bước xác định tuổi mực

Nghiên cứu đã rút ra được sơ đồ các bước xác định tuổi mực có phẩm màu CV:



Sơ đồ 3.1. Các bước xác định tuổi mực bút bi xanh có phẩm màu CV

3.4.2. Ứng dụng 1,2,3: Ba ứng dụng điển hình đã ứng dụng có kết quả các bước xác định tuổi mực trong thực tế được nêu chi tiết trong luận án.

KẾT LUẬN

Luận án là công trình đầu tiên ở Việt Nam ứng dụng thành công các phương pháp phân tích hóa lý để xác định tuổi của mực bút bi xanh viết trên giấy và áp dụng có hiệu quả với một số ứng dụng thực tế ở Việt Nam. Các kết quả chính luận án đạt được như sau:

1. Đã thiết lập các bước tiến hành sơ loại mực bút bi xanh bằng phương pháp hòa tan khuếch tán sử dụng các dung môi để phân loại, phân biệt mực bút bi xanh với các mẫu so sánh. Dựa trên 4 tiêu chí hòa tan - khuếch tán (độ hòa tan, màu dung dịch, độ thoái biến màu của dung dịch, màu nhân giấy sau khi khô) phương pháp đã thu hẹp được tối đa các loại mực bút bi so sánh, tiếp tục thử nghiệm so sánh với các loại mẫu so sánh trong các năm khác nhau để xác định khoảng thời gian viết, từ đó sơ bộ đánh giá được loại mực và tuổi mực tương đối của mực bút bi xanh cần phân tích.

2. Đã hoàn thiện quy trình phân tích các thành phần màu trong mực bút bi xanh bằng HPTLC, khảo sát và lựa chọn được các điều kiện tối ưu cho mục đích phân loại, phân biệt mực bút bi xanh bằng HPTLC, kết quả thu được cho thấy HPTLC kết hợp bán tự động với hệ thiết bị CAMAG IV là phương pháp bán định lượng có độ tin cậy cao, có lực phân biệt lên tới 97,8 % khi kết hợp các hệ dung môi khác nhau.

3. Đã đề xuất được hệ dung môi triển khai mới D^* tối ưu cho mực bút bi xanh với nhiều điểm ưu việt hơn một số hệ truyền thống khác: khả năng tách tốt hơn, vệt sắc nét và thời gian triển khai ngắn hơn. Bằng phương pháp HPTLC, đã có thể xác định tuổi mực tương đối của mực bút bi xanh có chứa phẩm màu chủ đạo là CV, dựa trên sự xuất hiện và biến thiên cường độ của các vết màu đại diện cho các thành phần phân hủy của phẩm màu này.

4. Bước đầu kiểm chứng phương pháp xác định tuổi mực tuyệt đối bằng GC-MS qua định lượng dung môi 2-PE còn lại trong mực. Kết quả nghiên

cứu cho thấy phương pháp này có độ tin cậy không cao, sai số lớn, phạm vi tuổi mực xác định được ngắn dưới 1 năm tuổi nên chỉ có giá trị như một phương pháp phụ trợ để khẳng định kết quả.

5. Đã nghiệm chứng phương pháp xác định tuổi mực tuyệt đối bằng quang phổ tán xạ Raman đề xuất bởi Gorshkova và cộng sự, xác định được laser bước sóng 532 nm với cường độ laser 0,036 mW và thời gian tích phân 150 s phù hợp để nghiên cứu mực bút bi xanh Việt Nam viết trên giấy. Phương pháp có nhiều ưu điểm, nhưng cũng còn tồn tại 1 số nhược điểm như cần nhiều mẫu so sánh để tăng độ chính xác và có thể cho ra nhiều hơn 1 nghiệm về tuổi mực – do đó cần kết hợp với các phương pháp khác để loại trừ và đi đến kết luận khẳng định.

6. Đã xây dựng được phương pháp xác định tuổi mực bút bi xanh bằng phương pháp UPLC-QTOF-MS, xác định được mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ CV với diện tích peak MS trong khoảng nồng độ từ 0,5 $ng.ml^{-1}$ cho tới 200 $ng.ml^{-1}$, đã xây dựng đồ thị biến thiên của CV/(CV+MV+TP) theo thời gian. Trong thực tế rất khó tách hoàn toàn được CV và các sản phẩm phân hủy ra khỏi hỗn hợp các chất trong mực do thành phần phức tạp và không được tiết lộ bởi các nhà sản xuất, do đó tương tác của các thành phần mực khác tới kết quả là chưa xác định được, cần nghiên cứu sâu hơn.

7. Đã xây dựng sơ đồ các bước tuổi mực bút bi xanh trên giấy và áp dụng sơ đồ này có kết quả vào thực tế cho một số thử nghiệm xác định tuổi mực từ 2018-2022, chứng minh được giá trị ứng dụng thực tiễn cao của luận án.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

[1] Hoang Anh Duc, Hoang Manh Hung, Tu Binh Minh, Ta Thi Thao (2019), *Applying High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC), Raman Spectroscopy (RS), Scanning Electron Microscope (SEM) in combination with paper thickness measurement to detect grafting of papers and estimate age of the debit document,* Conference Proceedings, pp. 22-26, The Analytica Conference Vietnam 2019, Ho Chi Minh City, Vietnam.

[2] Hoàng Anh Đức, Tạ Thị Thảo, Từ Bình Minh, Hoàng Mạnh Hùng (2020), *Đề xuất hệ dung môi mới và bình triển khai HPTLC tự chế ứng dụng cho phân biệt các loại mực bút bi xanh trên thị trường Việt Nam phục vụ cho lĩnh vực giám định tuổi mực trong khoa học hình sự,* Tuyển tập báo cáo khoa học, ISBN 978-604-67-1588-7, tr. 672, Hội nghị Khoa học Kỹ thuật đo lường toàn quốc lần thứ VII, Hà Nội, Việt Nam.

[3] Hoang A.D., Tu B.M., Ta T.T., Hoang M.H. (2021), "Combination of a green and a traditional method for estimating relative and absolute ink age: A case study of ballpoint pen ink in Vietnam", *Journal of Analytical Methods in Chemistry* Vol 2021 (Green Analytical Methods and Nanomaterials for Sample Preparation), Article ID 8870541.

[4] Hoàng Anh Đức, Từ Bình Minh, Tạ Thị Thảo, Hoàng Mạnh Hùng, Khuất Hoàng Bình (2021), "Quy trình xác định tuổi mực bút bi xanh trên tài liệu bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao và sắc ký lỏng siêu cao áp kết nối khối phổ tứ cực thời gian bay", *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học* Tập 26 (4B), tr. 18-24.

[5] Hoang Anh Duc, Hoang Manh Hung, Tu Binh Minh, Ta Thi Thao (2022), *Application of Raman spectroscopy in relative blue ballpoint pen ink dating for forensic document analysis – a case report,* Conference Proceedings, pp. 29-36, The 7th Analytica Vietnam Conference, Ho Chi Minh City, Vietnam.