

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102156118 A

(43) 申请公布日 2011.08.17

(21) 申请号 201110068576.8

(22) 申请日 2011.03.22

(71) 申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130000 吉林省长春市人民大街 5625
号

(72) 发明人 李壮 许富刚 孙玉静 张悦
石岩 温志伟

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 魏晓波 逯长明

(51) Int. Cl.
G01N 21/65 (2006.01)
G01N 1/40 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 3 页

(54) 发明名称

一种三聚氰胺的检测方法

(57) 摘要

本发明提供一种三聚氰胺的检测方法,包括
a) 提供基底;所述基底表面具有疏水层;b) 将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,使所述溶液浓缩,得到检测液;c) 将所述检测液进行拉曼散射检测,采集拉曼光谱信号,并通过信号得出三聚氰胺含量。本发明提供的检测方法检测限低,检测灵敏度高。

1. 一种三聚氰胺的检测方法,其特征在于,包括:
 - a) 提供基底;所述基底表面具有疏水层;
 - b) 将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,使所述溶液浓缩,得到检测液;
 - c) 将所述检测液进行拉曼散射检测,采集拉曼光谱信号,并通过信号得出三聚氰胺含量。
2. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述浓缩的时间为5~30min,温度为20~30℃。
3. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述浓缩方式为自然蒸发或烘干。
4. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述含有三聚氰胺的溶液的浓度为0.1~100 μM。
5. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤a)具体a1)将表面有醋酸锌的固体支持物在300~350℃下烧结,得到第一载片;
 - a2) 将所述第一载片在硝酸锌、六亚甲基四胺与1,3-丙二醇的混合溶液中浸泡,在所述第一载片表面形成锌纳米棒阵列,得到第二载片;
 - a3) 将所述第二载片浸泡在银溶液中,取出后进行紫外光照射,得到第三载片;
 - a4) 将所述第三载片在镀银溶液中浸泡,在所述锌纳米棒阵列表面形成银纳米层;
 - a5) 将所述第四载片浸泡在硬脂酸溶液中,在所述第四载片银纳米粒子表面形成疏水层,得到基底。
6. 根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述硬脂酸溶液为硬脂酸的乙醇溶液或硬脂酸的丙酮溶液。
7. 根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述固体支持物为玻片。
8. 根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述镀银溶液的制备方法为:

将氨水与硝酸银溶液混合,得到混合溶液;

将酒石酸钾钠的水溶液与所述混合溶液混合,得到镀银溶液。
9. 根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述硬脂酸溶液的浓度为0.5~1.5M。
10. 根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述浸泡的时间为12~36h。

一种三聚氰胺的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测方法领域,尤其涉及一种三聚氰胺的检测方法。

背景技术

[0002] 三聚氰胺是一种常用的化工原料,最主要的用途是作为生产三聚氰胺甲醛树脂(MF)的原料。三聚氰胺还可以作阻燃剂、减水剂、甲醛清洁剂等。该树脂硬度比脲醛树脂高,不易燃,耐水、耐热、耐老化、耐电弧、耐化学腐蚀、有良好的绝缘性能、光泽度和机械强度,广泛运用于木材、塑料、涂料、造纸、纺织、皮革、电气、医药等行业。由于其含氮量高,曾被不法生产商加入到乳制品当中,以提高其产品的含氮量。但是三聚氰胺在人体内难以降解,常常会以结晶形式存在于肾脏中,从而对人的生命安全构成重大威胁。国内外对乳制品中三聚氰胺的检测也倍加重视。发展一种快速灵敏可靠的检测三聚氰胺的方法,对于保障食品安全维护人民生命健康具有重要意义。目前的检测方法大都需要色谱质谱等大型仪器,处理过程复杂,检测成本较高。所以发展一种简便易行易操作的检测三聚氰胺的方法具有一定的实际应用价值。

[0003] 目前为止,应用于三聚氰胺的检测的方法主要有毛细管电泳法,气相色谱法,液相色谱法,质谱法,及各种色谱与质谱的联用方法,核磁共振法,振动光谱法化学发光法与免疫检测法等。毛细管电泳法,各种色谱质谱法的普遍不足是其样品前处理过程复杂,核磁共振法对仪器设备及操作技术要求高,检测成本较高。化学发光与免疫检测需要特定的试剂标记,过程较为复杂,成本高。与其它方法相比,振动光谱法相对比较简单,易于操作,成本较低廉。但是振动光谱法中的红外检测方法不适于在水溶液中检测三聚氰胺,这大大限制了其实际应用。

[0004] 表面增强拉曼散射是一种高灵敏的分析技术。它是指当分子吸附在金银等固体尤其是粗糙的固体(即基底)表面时,分子的拉曼散射强度会极大地(10^3 - 10^6 倍)增强的现象。要实现这一增强,一个高效的增强基底是必不可少的。当前以三维纳米结构阵列为模板组装的金银纳米复合结构由于其稳定性高,增强效果好,信号重现性高已被广泛的应用到生物化学分子的微量检测之中。

[0005] 另一方面,固体表面的润湿性研究也较为成熟。通过化学修饰,可以将原本亲水的表面转变为超疏水的表面。在亲水的表面,水滴滴上之后会很快的铺散到基底的较大范围的表面,其中的溶质就随水在基底上的大范围内铺散开来,基底上单位面积内的分子数就较少。而在超疏水的表面,水滴滴上之后不会铺散开,而是形成一个近似于球形的液滴,只有液滴的底部一小部分接触基底表面。随着溶剂水的蒸发,液滴的尺寸逐渐变小,液滴与基底的接触面积也就会减小。结果由于铺散受限,水中的溶质最终只能在分布在基底的较小的范围,从而单位面积内的分子数就会升高。这就是所谓的超疏水的浓缩作用。

[0006] 表面增强拉曼散射应用于三聚氰胺的检测国内外文献都有报道。最近的文献报道利用化学气相沉积的方法在基底上生长氧化锌纳米棒(针)阵列,然后通过水热反应直接在纳米棒表面生长金纳米粒子。这样得到的金纳米粒子包被的氧化锌纳米棒阵列式基底表

现出很高的拉曼增强活性。将其应用于二聚氰胺的检测可实现对 1 纳摩尔每升的二聚氰胺的响应,并成功应用于鸡蛋中三聚氰胺的定性检测。

[0007] 但是目前的表面增强拉曼散射局限于依靠基底的材料和结构来提高增强效果,对于其它方面如基底的表面性质对增强效果的影响很少考虑到。因此其灵敏度难以进一步提高,检测限需要进一步降低。

发明内容

[0008] 本发明要解决的技术问题在于提供一种三聚氰胺的检测方法,相比现有技术,降低检测限,提高了灵敏度。

[0009] 为了解决以上技术问题,本发明提供了一种三聚氰胺的检测方法,包括:

[0010] a) 提供基底;所述基底表面具有疏水层;

[0011] b) 将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,使所述溶液浓缩,得到检测液;

[0012] c) 将所述检测液进行拉曼散射检测,采集拉曼光谱信号,并通过信号得出三聚氰胺含量。

[0013] 优选的,所述浓缩的时间为 5 ~ 10min,温度为 20 ~ 30℃。

[0014] 优选的,所述浓缩方式为自然蒸发或烘干。

[0015] 优选的,所述含有三聚氰胺的溶液的浓度为 0.1 ~ 100 μM。

[0016] 优选的,步骤 a) 具体 a1) 将表面有醋酸锌的固体支持物在 300 ~ 350℃ 下烧结,得到第一载片;

[0017] a2) 将所述第一载片在硝酸锌、六亚甲基四胺与 1,3-丙二醇的混合溶液中浸泡,在所述第一载片表面形成锌纳米棒阵列,得到第二载片;

[0018] a3) 将所述第二载片浸泡在银溶液中,取出后进行紫外光照射,得到第三载片;

[0019] a4) 将所述第三载片在镀银溶液中浸泡,在所述锌纳米棒阵列表面形成银纳米层;

[0020] a5) 将所述第四载片浸泡在硬脂酸溶液中,在所述第四载片银纳米粒子表面形成疏水层,得到基底。

[0021] 优选的,所述硬脂酸溶液为硬脂酸的乙醇溶液或硬脂酸的丙酮溶液。

[0022] 优选的,所述固体支持物为玻片。

[0023] 优选的,所述镀银溶液的制备方法为:

[0024] 将氨水与硝酸银溶液混合,得到混合溶液;

[0025] 将酒石酸钾钠的水溶液与所述混合溶液混合,得到镀银溶液。

[0026] 优选的,所述硬脂酸溶液的浓度为 0.5 ~ 1.5M。

[0027] 优选的,所述浸泡的时间为 12 ~ 36h。

[0028] 本发明提供了一种三聚氰胺的检测方法, a) 提供基底;所述基底表面具有疏水层;b) 将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,使所述溶液浓缩,得到检测液;c) 将所述检测液进行拉曼散射检测,得到所述溶液中三聚氰胺含量。使用具有表面疏水能力的基底作为支持物,然后将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,由于基底表面疏水层的作用,所述含有三聚氰胺的溶液在所述基底上形成球状液滴,增加了液体的表面积,溶液蒸发后,

所述溶液中的三聚氰胺浓度升高,检测更容易,检测限低,并且使检测更加灵敏。另外,本发明提供的检测方法,简单易行,适合大批量的检测。

附图说明

- [0029] 图 1 本发明实施例 2 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱;
- [0030] 图 2 本发明实施例 3 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱;
- [0031] 图 3 本发明实施例 4 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱;
- [0032] 图 4 本发明比较例 1 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱;
- [0033] 图 5 本发明实施例 5 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱;
- [0034] 图 6 本发明比较例 2 提供的三聚氰胺拉曼散射光谱。

具体实施方式

[0035] 为了进一步了解本发明,下面结合实施例对本发明的优选实施方案进行描述,但是应当理解,这些描述只是为进一步说明本发明的特征和优点而不是对本发明专利要求的限制。

[0036] 名词解释:

[0037] 超疏水:水滴(一般小于 5 微升)在材料表面上的接触角大于 150°C 时,称为超疏水,相应的材料称为超疏水材料。

[0038] 散射:光束通过不均匀介质时,部分光束将偏离原来方向而分散传播,从侧向也可以看到光的现象,叫做光的散射。

[0039] 拉曼散射:光通过介质时由于入射光与介质中的分子相互作用而引起的光的频率发生变化的散射。

[0040] 表面增强拉曼散射:当分子吸附在金银等特定固体表面(即基底)时,其拉曼散射发生极大地(10^3 - 10^6 倍)增强的现象。

[0041] 本发明提供了一种三聚氰胺的检测方法,包括

[0042] a) 提供基底;所述基底表面具有疏水层;

[0043] b) 将含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,使所述溶液浓缩,得到检测液;

[0044] c) 将所述检测液进行拉曼散射检测,采集拉曼光谱信号,并通过信号得出三聚氰胺含量。

[0045] 相比较现有技术,本发明的检测方法主要优点在于使用了新型的基底,将超疏水的原理与表面增强拉曼散射检测三聚氰胺结合,使检测限更低,检测灵敏度更高。

[0046] 首先制备超疏水表面增强拉曼基底,先取一固体支持物,本发明优选使用玻片,更优选为显微镜玻片,优选将所述玻片用丙酮、乙醇和/或超纯水中洗涤,干燥。然后将所述干燥后的玻片浸泡在含有锌离子的溶液中,然后用非氧气体吹干表面,重复此操作 4~6 次。按照本发明,所述锌离子溶液优选为弱酸的锌盐,因为弱酸的锌盐加热后会分解而形成氧化锌。在含有锌离子的溶液中的浸泡时间为 25~30s,所述锌盐溶液的浓度为 0.005~0.1M。

[0047] 将所述表面有锌盐溶液的玻片在 $300\sim 350^{\circ}\text{C}$ 下烧结,得到第一载片;将所述第一载片在硝酸锌、六亚甲基四胺与 1,3-丙二醇的混合溶液中浸泡,在所述第一载片表面形成

锌纳米棒阵列,得到第二载片。按照本发明,所述烧结在本领域人员熟知的马弗炉或其他高温煅烧炉中进行。烧结时间优选为 10 ~ 25min,更优选为 15 ~ 20min。烧结后在所述第一载片表面形成一层氧化锌种子层,所述氧化锌种子为可以进一步反应生长出氧化锌纳米棒阵列。将所述表面有氧化锌种子层的载玻片放入浓度为 0.025 ~ 0.1M $Zn(NO_3)_2$ 、0.025 ~ 0.1M HMT 及 0.19 ~ 0.1M DAP 的混合溶液中,在 90 ~ 100°C 反应 50 ~ 100min,制得 ZnO 纳米棒阵列包覆的载玻片即第二载片。优选的所述 $Zn(NO_3)_2$ 、六亚甲基四胺 (HMT)、1,3-丙二胺 (DAP) 的总体积优选为 10 ~ 30mL。

[0048] 将所述第二载片浸泡在银溶液中,取出后进行紫外光照射,得到第三载片。按照本发明,将所述包覆有 ZnO 纳米棒阵列的载玻片放入 $AgNO_3$ 溶液中浸泡 20 ~ 60min,然后使用紫外线照射 5 ~ 10min,所述紫外线的波长为 254nm,功率为 15W,提供紫外线的设备优选使用本领域人员熟知的紫外线灯,载玻片距离灯管约 2cm,照射完成后,清洗吹干载玻片,再次在 $AgNO_3$ 溶液中浸泡 30min,再用紫外线照射 30min。得到表面为银纳米种子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的载玻片。将所述第三载片在镀银溶液中浸泡,在所述锌纳米棒阵列表面形成银纳米层;将所述第四载片浸泡在硬脂酸溶液中,在所述第四载片银纳米粒子表面形成疏水层,得到基底。

[0049] 再将所述表面为银纳米种子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的载玻片置于 20 ~ 30mL 镀银溶液中,室温下反应 10 ~ 20min,得到表面为银纳米粒子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的基底。将所述基底置于 0.5 ~ 1.5mM 的硬脂酸溶液中浸泡 12 ~ 36h 小时,反应结束后,用无水乙醇及超纯水冲洗所述基底,干燥。即得到超疏水表面增强拉曼散射基底。按照本发明,所述干燥优选使用非氧气体吹干。

[0050] 制备超疏水表面增强拉曼散射基底后,取含有三聚氰胺的溶液滴加在所述基底上,浓缩干燥。得到检测液。按照本发明,所述浓缩干燥优选使用自然蒸发或烘干,干燥温度优选为 20 ~ 30°C。将含有检测液的基底进行拉曼散射光谱检测,优选使用雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪。

[0051] 以下以具体实施例和比较例说明本发明的技术方案,但本发明的保护范围并不受以下实施例的限制。

[0052] 实施例 1

[0053] 制备超疏水表面增强拉曼散射基底

[0054] 取规格为 1cm×1.5cm 的玻片,依次在丙酮,乙醇,超纯水中超声清洗 10min 得到干净的载玻片,氮气吹干。将所述载玻片用 12 μ L、0.005M 的醋酸锌的乙醇溶液浸湿,25s 后用乙醇冲洗, N_2 吹干,重复此操作 4 次。载玻片放入马弗炉,于 350°C 烧结 20min,得到 ZnO 种子包覆的载玻片。覆有 ZnO 的载玻片再放入 20mL 含 0.025M $Zn(NO_3)_2$,0.025M HMT,及 0.19M DAP 溶液中,在 92°C 反应 90min,制得 ZnO 纳米棒阵列包覆的载玻片。将所述包覆有 ZnO 纳米棒阵列的载玻片放入 3mL 0.05M 的 $AgNO_3$ 溶液中浸泡 30min,然后开启紫外灯照射 10min,所述紫外线灯的波长为 254nm,功率为 15W,载玻片距离灯管约 2cm;照射完成后,清洗吹干载玻片,再次在 3mL 0.05M 的 $AgNO_3$ 溶液中浸泡 30min,再用紫外灯照射 30min。得到表面为银纳米种子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的载玻片。

[0055] 配制镀银溶液:0.3mL $NH_3 \cdot H_2O$ 浓度为 28 ~ 30wt%,在剧烈搅拌下加入到 12.5mL 0.12M 的 $AgNO_3$ 中,直到溶液由浑浊变得澄清。然后加入含有 1.25g 酒石酸钾钠的水溶液

12. 5mL, 即得镀银溶液。

[0056] 再将所述表面为银纳米种子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的载玻片置于 25mL 镀银溶液中室温下反应 15min, 得到表面为银纳米粒子包覆的 ZnO 纳米棒阵列的基底, 记作 Ag@ZnO。

[0057] 将所述 Ag@ZnO 基底置于 1mM 的硬脂酸的乙醇溶液中静止浸泡 24 小时, 然后取出用无水乙醇及超纯水冲洗, 氮气吹干。即得到超疏水表面增强拉曼散射基底。

[0058] 实施例 2

[0059] 将 10 μ L 1 μ M 的三聚氰胺溶液滴加在实施例 1 制备的基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 10min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 1 所示的光谱图。

[0060] 实施例 3

[0061] 将 10 μ L 1 μ M 的三聚氰胺溶液滴加在实施例 1 制备的基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 5min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 2 所示的光谱图。

[0062] 实施例 4

[0063] 将 10 μ L 0.1 μ M 的三聚氰胺溶液滴加在实施例 1 制备的基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 10min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 3 所示的光谱图。

[0064] 比较例 1

[0065] 将 10 μ L 0.1 μ M 的三聚氰胺溶液滴加在普通亲水性基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 10min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 4 所示的光谱图。

[0066] 通过实施例 2 ~ 4 与比较例 1 得到的拉曼光谱可以看出, 1 μ M 的三聚氰胺在超疏水的增强基底上的信号强度比较接近, 都是 1200cps, 说明信号重现性较好。对于 0.1 μ M 的三聚氰胺, 亲水基底对其没有给出特征响应, 而超疏水的基底却仍能够给出特征性的响应为 700cps, 表明超疏水的基底能进一步降低检测限。

[0067] 实施例 5

[0068] 分别将 10 μ L 0.1 μ M 和 10 μ L 100 μ M 的三聚氰胺溶液滴加在实施例 1 制备的基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 10min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 5 所示的光谱图。

[0069] 比较例 2

[0070] 分别将 10 μ L 0.1 μ M 和 10 μ L 100 μ M 的三聚氰胺溶液滴加普通亲水性基底上, 在 20 $^{\circ}$ C 下干燥浓缩 10min, 然后将所述基底置于雷尼绍 (Renishaw) 2000 型显微激光拉曼光谱仪中进行拉曼散射光谱数据采集, 得到如图 6 所示的光谱图。

[0071] 通过实施例 5 和比较例 2 所得的拉曼光谱图, 可以看出本发明提供的超疏水表面增强基底上的三聚氰胺的信号强度比较大, 其他信号较弱, 而普通基底上的信号比较杂乱, 说明本发明提供的检测方法检测的灵敏度高。

[0072] 以上对本发明提供的一种三聚氰胺的检测方法进行了详细的介绍, 本文中应用了具体个例对本发明的原理及实施方式进行了阐述, 以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想, 应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发

明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。

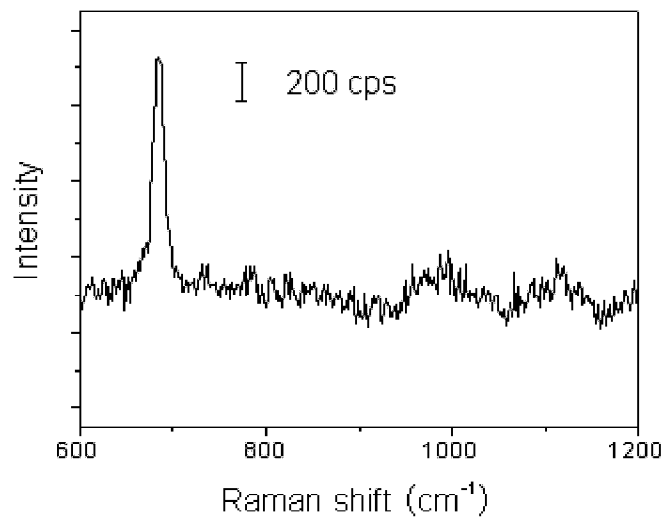


图 1

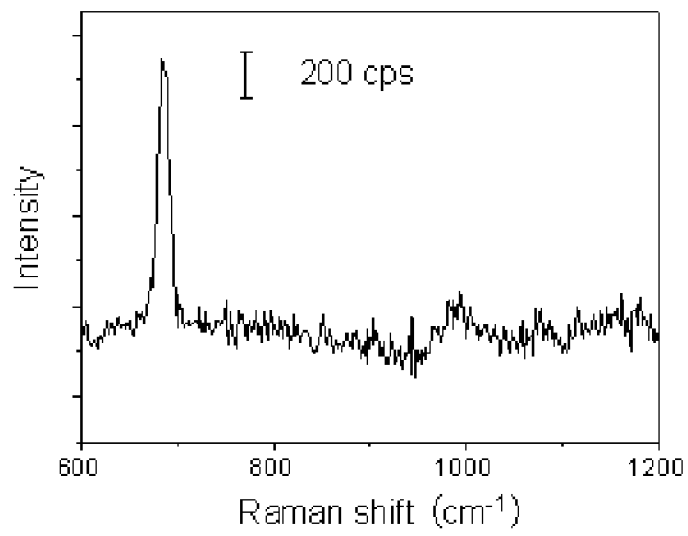


图 2

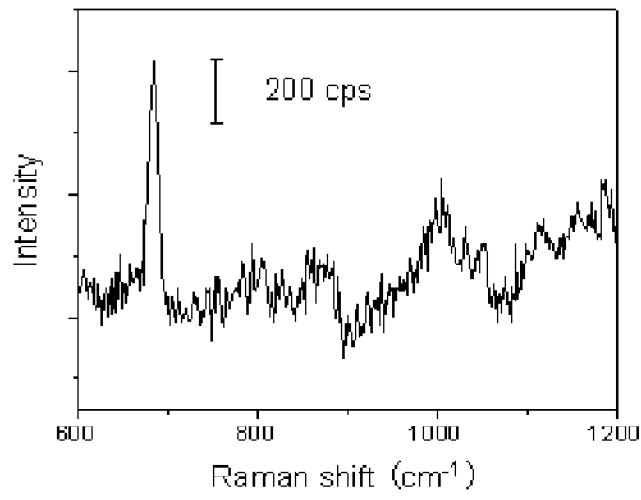


图 3

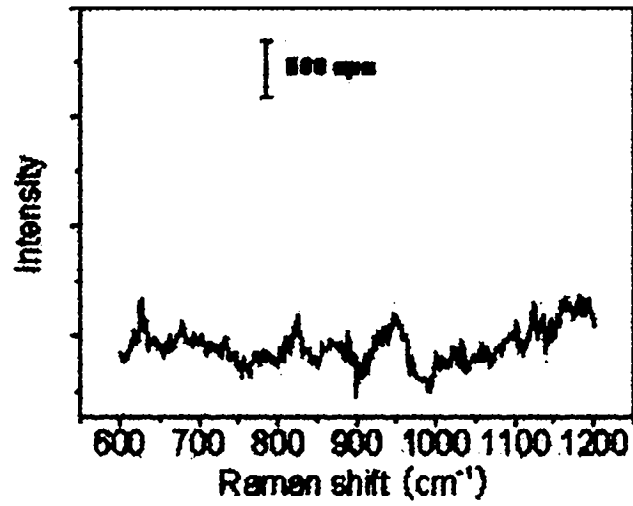


图 4

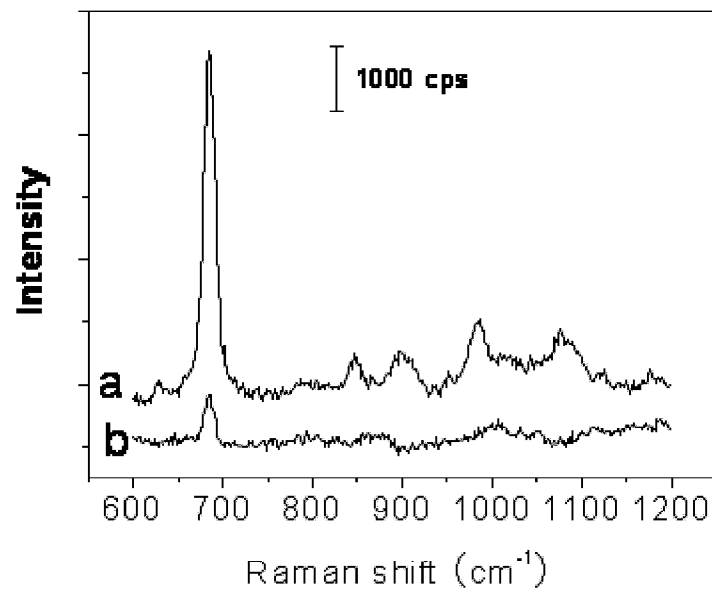


图 5

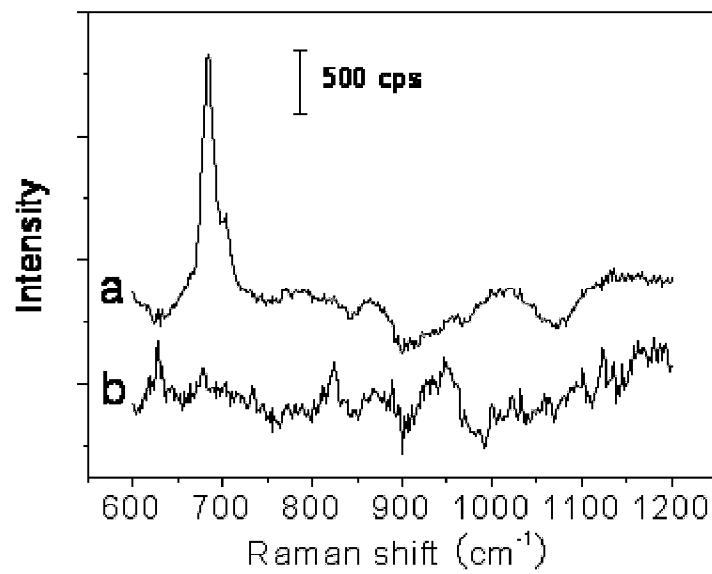


图 6