

便携式三聚氰胺快速检测仪的研制与应用

刘峰¹ 邹明强^{*1} 张孝芳¹ 齐小花¹ 范晓丽^{1,2} 董英² 朱超¹

¹(中国检验检疫科学研究院, 北京 100123) ²(江苏大学生物与环境工程学院, 镇江 212013)

摘要 自主研发了便携式三聚氰胺速检仪, 利用纳米增敏表面增强拉曼光谱法, 定量检出限为 0.5 mg/kg; 采用相对测量方式可有效克服测量不稳定性。用于原奶、消毒奶、酸奶、奶粉中三聚氰胺检测, 线性关系良好。样品前处理步骤简单。通常情况, 平均单样检测时间小于 2 min, 仪器检测时间小于 30 s, 尤其适用于现场快速分析。除了可应用于乳及乳制品中三聚氰胺含量速测外, 还成功用于橄榄油中掺假成分快速鉴别、养殖水中孔雀石绿快速检测。

关键词 三聚氰胺; 纳米增敏; 表面增强, 拉曼光谱法

1 引言

三聚氰胺毒牛奶事件对中国乳制品业造成了巨大冲击。为加强乳制品质量监管, 确保乳及乳制品食用安全, 2008 年 10 月国家颁布并实施了《乳制品监督管理条例》。2010 年 10 月国家质检总局发布《企业生产乳制品许可条件审查细则》(2010 版), 强调企业在购入生乳原料和原料乳粉及其加工制品时需批批检测三聚氰胺含量, 必须具备三聚氰胺检测能力^[1]。2011 年 4 月 6 日, 卫生部会同质检总局等五部门联合发布了食品中三聚氰胺限量值公告(2011 年 10 号), 规定: 婴儿配方食品中三聚氰胺的限量值为 1 mg/kg, 其它食品中三聚氰胺的限量值为 2.5 mg/kg^[2]。

根据国标 GB22388-2008 规定, 三聚氰胺检测方法为高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱/质谱法(LC-MS/MS)、气相质谱-质谱/联用方法(包括气相色谱质谱法 GC-MS 和气相色谱-质谱/质谱法 GC-MS/MS)^[3]。鉴于上述方法需在实验室进行, 检测成本高, 分析速度慢, 《审查细则》规定: 企业可以使用经相关部门认定的快速检验设备, 但检验结果呈阳性时, 应使用食品安全国家标准检验方法进行确认。因此, 对快速检测技术提出了急迫的市场需求。

拉曼散射光谱是一种根据物质特征结构所特有的拉曼特征信号进行鉴别和测量的光谱分析技术。20 世纪 90 年代后期, 拉曼技术开始应用于生物化学、安全检查、精密加工、珠宝文物鉴定、医药检测等众多领域^[4~6], 并从最初简单定性研究转向定量分析^[7~9], 具有简便、快速、无损、成本低廉等优势, 利用表面增强拉曼散射(SERS)^[10]技术, 可使普通 Raman 光谱灵敏度提高 $10^4 \sim 10^{14}$, 可满足现场快速检测要求。

本文介绍了 JZ-1 型三聚氰胺快速检测仪, 基于高可靠性的固定式非光纤集成拉曼光路设计, 集成控制和专用数据分析系统, 配合专利银胶增敏试剂, 具有我国自主知识产权^[11~14]。仪器及配套试剂, 利用表面增强拉曼光谱检测技术实现乳及乳制品中三聚氰胺快速定量分析, 定量下限为 0.5 mg/kg, 仪器检测时间小于 30 s。该速检仪便携、操作简便、运行成本低。可满足企业原料收购、生产质量控制等需求, 也为质检部门现场执法提供了快速检测技术手段。

2 仪器主要技术指标和特性

2.1 仪器的主要技术指标

该仪器由中国检验检疫科学研究院研制, 并与威海威高电子有限公司联合开发, 基于纳米增敏表面增强拉曼光谱检测方法^[7,12], 主要技术指标如下。

定量下限: 0.5 mg/kg; 检测误差 $< 10\%$; 单样检测时间 < 30 s; 激光波长: 785 nm; 光谱检测范围: 200~3000 相对波数; 光谱分辨率: < 13 cm^{-1} ; 工作温度: 10~30 $^{\circ}\text{C}$; 外形尺寸: 270 \times 230 \times 115 mm; 集

2011-05-17 收稿; 2011-06-22 接受

本文系科技部科技支撑计划(No. 2009BAK58B01)、国际科技合作与交流专项(No. 2008DFA40270)资助项目

* E-mail: mingqiangz@sina.com

成数据处理系统, 6.4 英寸触摸屏输入, 带有 2 个 USB 接口。

2.2 光学设计

传统检测光路, 整个光机结构设计需要对每个器件进行定位、调整, 结构复杂、稳定性差, 不便于检测仪器的现场应用、维护和维修。现有国外便携式激光光谱分析仪器多采用光纤耦合技术, 由于光纤光路耦合效率低, 会使光能量有较大损失, 且受到光纤弯曲、移动等因素的干扰, 其稳定性差, 不适用于高灵敏拉曼光谱检测的需要。针对以上问题, 对于仪器光学系统设计, 没有参照国外便携式拉曼光谱检测仪器的光纤结构, 而是采用了固定光路结构。通过对光机元件的优化, 仅通过对反射镜的调节即可完成光路调校, 校准锁定后光路稳定可靠, 在使用前无需再次对光路进行调节。

为了保证仪器光路系统的稳定, 仪器设计了专用的反射镜架。反射镜架的固定和调节采用了顶结合方案, 利用精密数控加工技术的优势, 对光具架进行了一体化改进, 以预留的链接梁和两对顶丝和螺丝对光具座动板进行控制和固定。两对顶丝和螺丝分别设置在链接梁的轴向和垂直轴向上, 可以单独控制动板的水平和俯仰调整。当螺丝和顶丝锁死后, 将使动板形成三点固定的稳固结构。整机以 30° 倾角对仪器 4 个方向进行底面跌落实验, 光谱信号衰减 $<10\%$ 。

整个仪器的光学系统以光学底板为基准, 预先在底板上经精密数控加工出定位槽, 保证各部件的安装精准。这一设计使光路中光学元件的定位和更换非常简单, 大大提高了仪器的可维修性。仪器外观和光学结构见图 1。

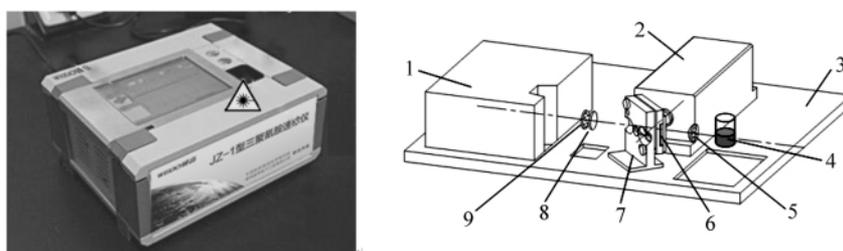


图 1 仪器外观(a)和光学结构(b)

Fig. 1 Instrument appearance (a) and optics system configuration (b) of portable Raman spectrometer

1. 光谱探测器(Spectrometer); 2. 激光器(Laser); 3. 底板(Base Plate); 4. 样品(Sample); 5. 聚光镜(Condenser); 6. 分光镜(Dichroic Mirror); 7. 调整架(Adjustable Stages); 8. 滤光片(Edge Filter); 9. 接收镜(Coupler)。

2.3 仪器控制系统

仪器控制电路分为两个部分: 电源部分和控制系统, 其原理图如图 2。电源部分设计中将用于激光器供电的模拟电源和用于控制部分供电的数字电源分离, 以防止数字信号对激光输入产生干扰。仪器控制电路采用基于 X86 体系的控制板构架, 工作频率 500 MHz, 256 M 内存, 通过 USB 端口控制触摸屏和光谱仪, 控制板以工业 CF 卡作为外存储器, 并留有两个 USB 2.0 端口, 可用于数据备份和连接打印机。

2.4 信号处理和操作界面

为了提高仪器检测速度和使用便捷性, 仪器设计要求在使用中无须对光路进行调整。然而对于每个样品其放置位置的微小差异, 以及其它环境因素都会使检测光谱发生强弱变化, 会导致信号发生与待测信号无关的波动。为了解决这一问题, 仪器在信号处理上采用了三聚氰胺信号 (709 cm^{-1}) 对乳品本身 928 cm^{-1} 信号归一的方法, 经过归一的信号克服了外界因素对测量的影响, 使测量稳定性得到提高, 为定量检测奠定了基础。

仪器采用嵌入式分析控制系统, 无需外接计算机。将检测过程控制、光谱信号处理、光谱分析及数

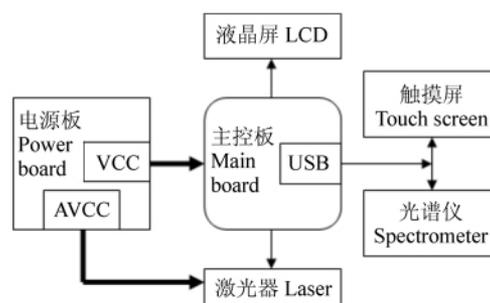


图 2 仪器控制原理图

Fig. 2 Schematic diagram of control system

据分析等功能进行封装，仪器操作界面简洁、明确。根据实际检测需要仪器软件设计了标准曲线拟合、安全提示、操作员管理、误操作提示、检测结果自动报表、检测超标数据自动告警等功能。尽可能根据实际使用需求提高仪器的可操作性和便捷性。根据标样计算仪器的校准曲线，并给出标线拟合公式及线性相关系数。图 3 为仪器生成的检测记录，以列表形式提供检测记录编号、检测浓度、检测时间、操作员代码、标准曲线代号等信息，并对超标数据提供指示。检测记录可以方便回放检查，记录还可以通过 USB 接口导出进行备份，适合质量管理和过程追溯的要求。

2.5 样品前处理和仪器的操作

仪器检测只需进行以下步骤：(1)样品前处理 量取 1.0 mL 试样于 10 mL 离心管中，加入 4.0 mL 水，涡旋混匀；量取其中 1 mL 匀质试液于 1.5 mL 离心管中，以不低于 5000 g 离心 3 ~ 5 min，取清液待测；(2)加样 取 250 μ L 检测试剂 A 于 2 mL 的样品池中，加入 150 μ L 检测试剂 B，小心吸取待测清液 100 μ L 于样品池中，使用涡旋振荡器混匀；(3)测试 将样品放入检测室，点击“测试”即开始检测，约 10 s 后即可显示结果。应注意的是，检测和加样过程应尽量连贯操作，以保证测试结果的一致性。全程分析时间(包括样品前处理和测试)仅需 5~6 min，检测速度远远高于 HPLC 等方法。

No.	编号	浓度	时间	操作员	校准...	备注^
1	0-000	0.15mg/L	20:33	1	BX-sy...	IL/
2	0-001	0.04mg/L	20:34	1	BX-sy...	IL/
3	0-002	0.19mg/L	20:34	1	BX-sy...	IL/
4	0-003	0.26mg/L	20:35	1	BX-sy...	IL/
5	0-004	-0.16mg/L	20:35	1	BX-sy...	IL/
6-?	1	0.97mg/L	20:37	1	BX-sy...	IL/
7-?	1-001	0.96mg/L	20:38	1	BX-sy...	IL/
8-?	1-002	0.97mg/L	20:38	1	BX-sy...	IL/
9-?	1-003	0.88mg/L	20:38	1	BX-sy...	IL/
10-?	1-004	1.01mg/L	20:39	1	BX-sy...	IL/

图 3 自动报表管理界面

Fig. 3 Interface for reports review

3 结果与讨论

3.1 仪器耦合效率比对

为了验证仪器光学系统效率，以乙腈标品和 2.5 mg/kg 三聚氰胺纯牛奶样品为检测对象，将仪器与国外便携式拉曼光谱仪器(光纤结构，制冷 CCD 光谱仪)进行比对。如图 4 所示，针对同一样品(乙腈)，积分时间均设置为 3 s，均经过暗背景扣除，本仪器信号强度约为国外仪器的 2 倍，而背景噪声却更低，即表明对拉曼光谱的耦合效率优于对比的仪器。

图 5 为 2.5 mg/kg 三聚氰胺原奶样品检测结果的比对。两仪器设置采样时间相同，试剂相同，其

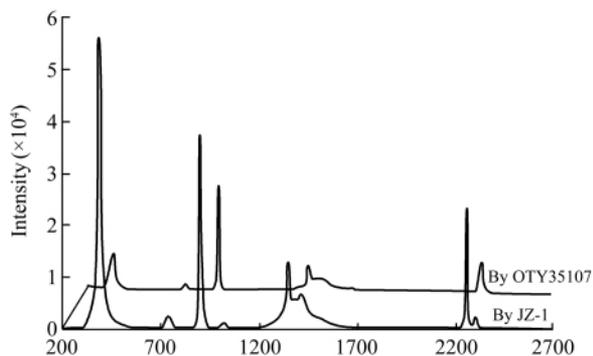


图 4 两种不同仪器的乙腈拉曼光谱比较

Fig. 4 Coupling efficiency comparison of OTY35107 method and JZ-1 method by using the same acetonitrile sample

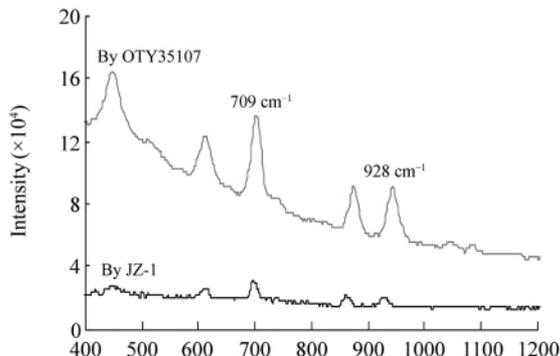


图 5 添加三聚氰胺(2.5mg/kg)原奶溶液后两种不同仪器的拉曼光谱比较

Fig. 5 Coupling efficiency comparison of OTY35107 method and JZ-1 method by spiking 2.5 mg/kg melamine in raw milk samples

它设置与乙腈实验相同。可见，本仪器于波数 709 cm^{-1} 附近的三聚氰胺检测信号已足够强，而对比仪

器三聚氰胺信号尚达不到测量要求。当比对仪器积分时间设置为 20 s 时,三聚氰胺信号强度方达到本仪器水平。两组实验表明,通过光学系统的合理设计,仪器具有灵敏度高、可靠性好、便于维修和使用等特点。

3.2 重复性测试

考虑到乙腈光谱简单,几乎没有背景干扰,测量结果受其它因素影响少等特点,以乙腈标品为测量对象考察仪器测量的重复性。为了考察仪器自归一测量性能,以乙腈 378 cm^{-1} 处信号对 928 cm^{-1} 处信号进行归一,经过 25 次重复测试。测量平均值为 1.596;标准差:0.007;相对标准偏差为 0.5%。重复第一组实验,但每次操作均将样品取出并重新装入仪器,测量平均值为 1.598;标准差:0.010;相对标准偏差 0.6%。由以上两组实验可知,采用自归一方法使仪器测量重复性好,每次重新装入样品等操作因素引起的测量误差基本可以忽略,因此仪器使用方便,适于现场快速检测。

以添加三聚氰胺的纯牛奶进行重复性检测实验。首先采用阴性纯牛奶配制 0~10 mg/kg 标准系列,拟合制作标准曲线,拟合方程为: $y=0.488+0.163x$,线性相关系数 $R^2=0.9956$,式中 y 为三聚氰胺浓度, x 为自归一信号。以相同阴性纯牛奶配制 2.5 mg/kg 三聚氰胺样品并分为 10 份,分别进行 10 次测量,所测自归一信号的对标准偏差为 2%;回代浓度的相对标准偏差为 5%。比较 3 组实验数据可知,对于液态奶样品,样品基质干扰、增敏试剂反应后样品均匀性及胶体反应动态特性等对测量有一定影响,同时因误差传递放大因素使回代浓度重复性有所劣化,但完全可满足快速检测要求。

3.3 液态乳三聚氰胺检测

分别对原奶、杀菌牛奶、固体纯酸奶、奶粉实际样品制作标准曲线,标品浓度范围 0~30 mg/kg。图 6 给出了仪器生成的原奶标准曲线。对于不同样品拟合公式和拟合优度 R^2 分别为原奶: $y=1.026+0.557x$, $R^2=99.796\%$; 杀菌牛奶: $y=0.727+0.165x$, $R^2=99.804$; 固体纯酸奶: $y=0.369+0.176x$, $R^2=99.898\%$; 奶粉: $y=0.331+0.029x$, $R^2=99.649\%$ 。

从拟合数据来看,不同基质的拟合直线斜率和截距不同,检测灵敏度存在差异,其中原奶斜率最大,检测灵敏度最高。从拟合公式、拟合优度参数可知,在 0~30 mg/kg 范围内,仪器线性关系良好,拟合优度均高于 99%。

原奶样品加入浓度为 0.5, 1.0, 2.0 和 30.0 mg/kg 三聚氰胺的回收率分别为 81.0%, 113.5%, 108.5% 和 100.0%,符合 SN/T2805-2011《出口液态乳中三聚氰胺快速测定-拉曼光谱法》要求。

3.4 性能评价及应用

本仪器及配套检测技术经不断改进,在 2008~2010 年参加由科技部会同国家质检总局、农业部、卫生部面向全国公开举行的 4 次现场盲样测试评价。在对优选出的 4 家单位进行最终测试评价中,针对 24 个盲样,无假阴性,无假阳性。评价结论为:检测结果数据可靠,方法可用。检测结果详见表 1。

表 1 乳制品实测数据

Table 1 Real test data of milk samples

盲样编号 No.	标准值 Actual value	结果 Found (mg/kg)	判定 Remarks	盲样编号 No.	标准值 Actual value	结果 Found (mg/kg)	判定 Remarks
435		0	无误判 Without fault	148		1.95	无误判 Without fault
463	0	0		297		1.94	
555		0		310	1.99	1.98	
579		0.32	314		2.09		
649	0.29	0.35	337		1.98		
712		0.32	361		2.05		

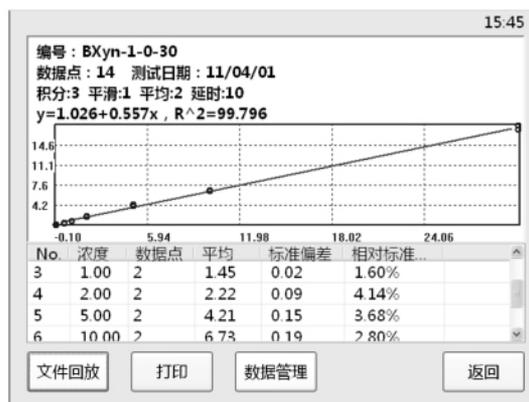


图 6 原奶标准曲线拟合

Fig. 6 Standard curve of melamine in raw milk

续表 1(Continued to Table 1)

盲样编号 No.	标准值 Actual value	结果 Found (mg/kg)	判定 Remarks	盲样编号 No.	标准值 Actual value	结果 Found (mg/kg)	判定 Remarks
601	0.49	0.52	无误判 Without fault	207	7.97	7.92	无误判 Without fault
624		0.51		217		7.56	
665		0.51		829		7.6	
260	1.80	1.85	无误判 Without fault	724	24.60	25.34	无误判 Without fault
292		1.82		748		25.31	
368		1.81		749		23.21	

2011 年首批定型仪器及配套技术在西藏质监局及全区下辖 7 个分支局得以初步应用, 在拉萨和海拔 4500 m 的高原地区(那曲), 仪器能正常、有效工作, 性能稳定。此外仪器具备便携式拉曼光谱仪的分析能力, 通过对软件及算法的不断完善, 本仪器还在食品安全检测领域得到拓展, 例如, 橄榄油中掺假成分快速鉴别, 养殖水中孔雀石绿快速检测和燃油快速鉴别等^[8,9,15,16]。

References

- 1 *Review Rules of Permitted Conditions for Enterprise Producing Dairy Products*(企业生产乳制品许可条件审查细则), **2010**, <http://www.aqsq.gov.cn/zwgk/jlgg/zjgg>
- 2 *Notic for Limited Value of Melamine in Food* (《食品中三聚氰胺限量值公告》), **2011**, <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohwsjdj/s7891>
- 3 GB22388-2008, National Standard of P. R. China(中华人民共和国国家标准), **2008**
- 4 WANG Yi-Yin, YANG Qun, LI Chao-Zhen(王怡林, 杨群, 李朝真). *Spectroscopy and Sepctral Analysis*(光谱学与光谱分析), **2004**, 24(7): 823~825
- 5 WANG Kun-Lin, LIU Ming-Ren(王昆林, 刘仁明). *Chinese J. Spec. Lab*(光谱实验室), **2011**, 28(2): 832~835
- 6 LI Dong-Feng, WANG Hao-Jing, WANG Xin-Kui(李东风, 王浩静, 王心葵). *Spectroscopy and Spectral Analysis*(光谱学与光谱分析), **2007**, 27(11): 2249~2253
- 7 Zhang X F, Zou M Q, Qi X H, Liu F, Zhu X H, Zhao B H. *J. Raman Spec.*, **2010**, 41: 1365~1370
- 8 Zou M Q, Zhang X F, Qi X H, Ma H L, Dong Y, Liu C W, Guo X, Wang H. *Agric. Food Chem.*, **2009**, 57: 6001~6006
- 9 Zhang X, Zou M, Qi X, Liu F, Zhang C, Yin F. *J. Raman Spec.*, (**2011**) in press.
- 10 Tan Zhong-Qun(田中群). *China Basic Science*(中国基础科学), **2001**, 3:4~10
- 11 ZOU Ming-Qiang, LIU Feng, QI Xiao-Hua, Zhang Xiao-Fang(邹明强, 刘峰, 齐小花, 张孝芳). *Chinese Invention Patent*(国家发明专利), **2009**, ZL200910079085.6
- 12 ZOU Ming-Qiang, ZHANG Xiao-Fang, QI Xiao-Hua(邹明强, 张孝芳, 齐小花). *Chinese Invention Patent*(国家发明专利), **2008**, ZL200810225085.8
- 13 Chinese Academy of Inspection and Quarantine(中国检验检疫科学研究院). *Software Copyright*(软件著作权), **2011**, RN(登记号): 2011SR019640
- 14 LIU Feng, ZOU Ming-Qiang, LI Meng, ZHANG Cheng, YIN Feng(刘峰, 邹明强, 李勣, 张程, 尹峰). *Chinese Invention Patent*(国家发明专利), **2011**, 201110041184.2
- 15 Fessard, V. Godard, T. Huet, S. Mourou A, Poul J M. *Applied Toxicology.*, **1999**, 19(6): 421~430
- 16 FAN Xiao-Li, QI Xiao-Hua, ZOU Ming-Qiang, DONG Ying(范晓丽, 齐小花, 邹明强, 董英). *Acta Metrologica Sinica(Suppl.)*(计量学报(增刊)), **2010**, 31(5A): 1~4

Development of Portable Raman Spectrometer and Its Application for Determination of Melamine

LIU Feng¹, ZOU Ming-Qiang^{*1}, ZHANG Xiao-Fang¹, QI Xiao-Hua¹,
FAN Xiao-Li^{1,2}, DONG Ying², ZHU Chao¹

¹(Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123)

²(School of Biological and Environmental Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013)

Abstract A portable Raman spectrometer for melamine analysis was developed. The limit of quantitation was raised to 0.5 mg/kg by using surface-enhanced Raman scattering (SERS) technique. Using the relative measurement method, the instability of measurement was effectively improved. Experiments with raw milk, pasteurized milk, yoghurt, milk powder demonstrated that melamine concentration gradient showed good linearity with the spectrometer measured signal. The rapid inspection spectrometer had a good user interface and functions of analysis such as data collection, storage, classification, evaluation of the confidence level, RSD analysis. It was especially possible to have a rapid on-site testing with its small size, portable, simple sample preparation requirements, the average detection time of single sample <2 min and the response time of instrument <30 s. The detection sensitivity, linear relationship and stability of the spectrometer were also good even though under extreme environment such as Tibet Lhasa and Naqu area that is an altiplano higher than 4500 m. The portable Raman spectrometer was also successfully used for the rapid authentication of olive oil and rapid detection of malachite green in fish farming water and other fields.

Keywords Melamine; Nano radiosensitizing; Surface enhancement; Raman spectrometry

(Received 17 May 2011; accepted 22 June 2011)

梅特勒-托利多倾力协办 2011 中国第三方检测实验室发展论坛

由中国检验检疫科学研究院主办的第三届中国第三方检测实验室发展论坛于 2011 年 9 月 8 日至 9 日在河北承德隆重举行。这是自该论坛创立以来首次移师北京之外举办,也是梅特勒-托利多公司连续三届全程参与协办,鼎力支持中国第三方检测行业发展。

本届论坛以“公正检验、服务民生”为主题,提出了加强行业自律、保证检测公正性的倡议。中国检科院李怀林院长、国家认监委谢军副主任、国家认可委宋桂兰副秘书长、承德出入境检验检疫局张继东局长等出席了开幕式。梅特勒-托利多中华区总裁林桂兴先生在开幕式上致词,“近几年来中国政府在食品安全领域管理力度的加强,社会透明度的提高,让我们感觉到肩上责任的重大。梅特勒-托利多作为全球领先的解决方案提供商,同样肩负着提升产品质量安全检测的责任,梅特勒-托利多将继续不遗余力地推动检测行业快速发展。

论坛举办期间,来自欧美和国内的第三方检测机构总裁、专家,以及 300 多位来自全国质监系统、分析测试中心、大型企业的技术负责人、质量负责人、实验室管理人员、资深工程师,针对中国第三方检测行业管理和行业发展、食品安全法规、食品检测机构资质认定、环境污染物监测、环保最新法规、欧盟 REACH 最新法规、最新检测技术等领域进行了广泛交流,对我国第三方检测行业在国家经济各领域发展中发挥的服务作用以及第三方检测行业的发展机遇进行了深入探讨。

为了鼓励学术创新和管理创新,提高中国第三方检测实验室发展论坛的学术氛围,本届论坛还特别开展了有奖论文征集活动。在近一个半月的时间里,共收到投稿论文 32 篇,有对检测行业总体状况的分析,有对目前检测机构所存在问题的探讨和未来之路的思考,也有对检测技术的研究。经过组委会初审和修改,以及专家组评审,最终评选出 22 篇荣获“梅特勒-托利多杯”优秀论文奖,3 篇荣获“梅特勒-托利多杯”最佳论文奖。

与论坛同期举办的实验室展览会,吸引了梅特勒-托利多、安捷伦、沃特世、赛默飞世尔等二十多家分析仪器、耗材供应商及检测机构参展。