

文章编号: 0253-2239(2009)11-3163-05

## 三聚氰胺溶液的荧光光谱实验研究

韩彩芹<sup>1,2</sup> 刘莹<sup>1</sup> 赵文艳<sup>1</sup> 骆晓森<sup>2</sup> 倪晓武<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 徐州师范大学物理与电子工程学院, 江苏 徐州 221116; <sup>2</sup> 南京理工大学理学院, 江苏 南京 210094)

**摘要** 对三聚氰胺溶液和含三聚氰胺的奶粉溶液在紫外光激励下产生的荧光光谱进行了实验研究。讨论了其产生机理和谱线特性, 并对奶粉溶液和含三聚氰胺奶粉溶液的荧光光谱进行了纵坐标比值变换分析。结果表明, 三聚氰胺溶液在波长为 240 nm 左右的紫外光激励下能产生较强的荧光, 荧光峰分别位于 350 nm 和 370 nm 附近; 在同一波长紫外光激励下, 含三聚氰胺奶粉溶液与奶粉溶液的荧光光谱相比, 荧光主峰位置由 328 nm 变为 350 nm, 其他荧光峰的位置基本保持不变, 荧光相对强度在 370 nm 处最大。

**关键词** 医用光学; 三聚氰胺; 奶粉; 紫外光激励

**中图分类号** O433.4 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS20092911.3163

## Experimental Research on Fluorescence Spectra of Melamine Solution

Han Caiqin<sup>1,2</sup> Liu Ying<sup>1</sup> Zhao Wenyan<sup>1</sup> Luo Xiaosen<sup>2</sup> Ni Xiaowu<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> College of Physics & Electronic Engineering, Xuzhou Normal University, Xuzhou, Jiangsu 221116, China)  
(<sup>2</sup> College of Science, Nanjing University of Science & Technology, Nanjing, Jiangsu 210094, China)

**Abstract** The fluorescence spectra of melamine-water solution and milk powder-water solution mixed with melamine excited by UV-light were studied experimentally. The emission mechanism and the spectral characteristic were discussed, and the fluorescence spectra were analyzed and calculated by ordinate ratio transformation. The result shows that the melamine-water solution exhibits an obvious fluorescence peak nearby 350 nm and 370 nm with the optimal excitation wavelength of 240 nm. Compared with milk powder-water solution, the fluorescence peak location of milk powder-water solution mixed with melamine, excited by UV-light with same wavelength, changes from 328 nm to 350 nm. The other peak locations are basically changeless, and the relative fluorescence intensity of 370 nm is the maximum one.

**Key words** medical optics; melamine; milk powder; UV-light excitation

### 1 引言

2007 年 3 月, 美国发生了宠物食粮小麦蛋白粉导致宠物猫狗死亡、并使上千只宠物患上肾病事件。2009 年 9 月, 由三鹿奶粉事件引发的乳制品中掺加三聚氰胺的问题, 引起了整个社会的关注, 三聚氰胺成为媒体和食品安全部门调查的焦点, 许多学者展开了对三聚氰胺的研究<sup>[1~5]</sup>。三聚氰胺是一种重要的氮杂环有机化工原料, 纯三聚氰胺可作阻燃剂, 也可作酚醛树脂、脲醛树脂的改性剂, 其最主要的用途

是作为生产三聚氰胺甲醛树脂的原料<sup>[6]</sup>。还可制得具有阻燃特性的三聚氰胺衍生物, 在防火涂料、阻燃塑料、防火板材及其他阻燃材料中有着广泛的应用<sup>[7]</sup>, 在部分亚洲国家也被用于制造化肥。目前三聚氰胺的检测方法有气相色谱-质谱法<sup>[8,9]</sup>、固相萃取与高效液相色谱联用法<sup>[10]</sup>、高效液相色谱-二极管阵列检测法<sup>[11]</sup>、液相色谱串联质谱法等检测方法<sup>[12]</sup>等。

荧光光谱特别是单光子计数荧光光谱技术是研

收稿日期: 2008-12-20; 收到修改稿日期: 2009-02-16

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK2007204)和江苏省教育厅自然科学基金(07KJD140208)资助课题。

作者简介: 韩彩芹(1972—), 女, 博士研究生, 主要从事光与物质及生物组织相互作用等方面的研究。

E-mail: hancqin@163.com

导师简介: 倪晓武(1955—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事激光物理和光生物物理与应用等方面的研究。

E-mail: nxw@mail.njust.edu.cn(通信联系人)

究分子结构较灵敏的分析方法之一,研究分子的荧光光谱可为研究分子的微观结构、分子的构象特点及变换情况提供帮助<sup>[13,14]</sup>。由于其高灵敏性和良好的选择性,荧光光谱分析从一建立起,就引起人们普遍的重视,在生物化学、医学、工业和化学研究中应用广泛<sup>[15~20]</sup>。本文对三聚氰胺溶液和含三聚氰胺的奶粉溶液在紫外光激励下所产生的荧光光谱进行了实验研究,并分析了其荧光光谱特性随溶液质量分数的变化关系,分析了三聚氰胺溶液产生荧光的机理,通过纵坐标比值变换讨论了含三聚氰胺奶粉溶液相对于奶粉溶液荧光光谱的变化。该荧光光谱特性可用于研究三聚氰胺溶液的物理化学性质,也为三聚氰胺和乳类混合液的研究提供了一种新的分析手段。

## 2 实验仪器和方法

### 2.1 实验样品

本实验中使用的三聚氰胺由上海凌峰化学试剂有限公司出品,质量分数大于 98.5%。奶粉为全脂奶粉,其指标为 100 g 奶粉含热量 2114 kJ,脂肪 28.2 g,蛋白质 24 g,矿物质 5.7 g,钙 920 mg,碳水化合物 39 g,铁 15 mg,磷 720 mg,维生素 A 和 D3 分别为 2100 和 340 国际单位。

三聚氰胺溶液的配制:用精度为 0.1 mg 的分析天平称取 10 mg 三聚氰胺,加水稀释成质量分数分别为 0.08%, 0.06%, 0.04%, 0.02%, 0.01%, 0.005%, 0.001% 和 0.0005% 的溶液,所获得溶液的质量分数值的准确度为 96%。

含三聚氰胺奶粉溶液的配制:用精度分别为 10 mg 的物理天平和 0.1 mg 分析天平称取 10 g 奶粉和 10 mg 三聚氰胺,先将奶粉用去离子水稀释成一定质量分数的奶粉溶液,然后按照一定的比例在奶粉溶液中加入三聚氰胺,稀释成三聚氰胺质量分数为 0.001% 的奶粉溶液。

### 2.2 实验装置和方法

实验仪器为英国 Edinburgh Instruments Inc 生产的 FLS920 型稳态和时间分辨荧光光谱仪。其中稳态光谱测量的光源功率为 450 W 的氙灯,经单色仪系统选取合适的激励光照射到样品上,样品发出的荧光经单色仪系统进入光电倍增管,光电倍增管把光信号进行采集和处理后输出到计算机上,实验中其扫描波长在 200~900 nm 范围内连续可调。实验仪器的设置参数为:激发光和发射光的狭缝带宽度均为 3 nm,激发光谱和发射光谱的扫描间隔均为 1 nm,扫描中均使用修正以消除探测器对不同

的激发光的响应时间不同所带来的误差,在每个波长处的扫描时间为 0.2 s。

实验中使用的是长宽高为 10 mm×10 mm×40 mm 的无荧光石英比色皿,荧光扫描时用该比色皿盛装被测样品 3 ml 并放置于光谱仪的样品池中。为保证结果的可比性,所有样品的荧光光谱检测过程中各种参数设置都相同,每一样品均进行三次扫描测试,并且每一次测试前均进行摇动以保证溶液的均匀性,三次测得的实验结果基本相同。所有的荧光光谱检测过程均在室温下进行。

## 3 实验结果

### 3.1 三聚氰胺溶液的荧光光谱

由图 1 可知,在 320~460 nm 处的展峰是三聚氰胺溶液的主要荧光峰,其峰值对应波长为 362 nm,且在 450 nm 处有一个强度很弱的肩峰。为了获取最佳的荧光激发波长,实验中对峰值为 362 nm 的荧光进行多波段激发光谱扫描,结果显示在 240 nm 处出现吸收最大值,可知波长为 362 nm 的荧光发射对应的最佳激发光波长为 240 nm。

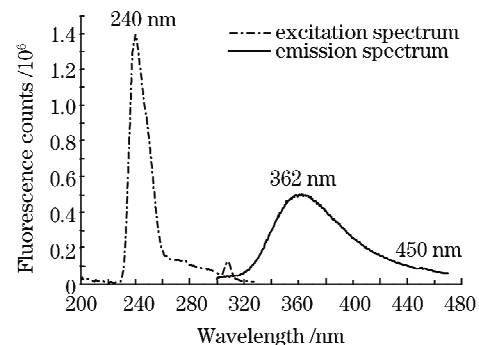


图 1 三聚氰胺水溶液的激发光谱和发射光谱

Fig. 1 Excitation spectrum and emission spectrum of melamine-water solution

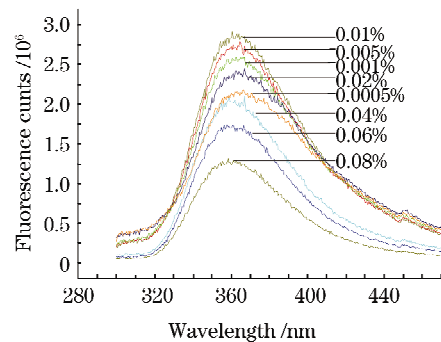


图 2 不同质量分数三聚氰胺水溶液的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of melamine-water solution with various mass fraction

图 2 为 240 nm 的紫外光激发不同质量分数的三聚氰胺溶液的荧光光谱。不同质量分数溶液的荧光峰均出现在 320~460 nm 范围内,峰位在 360 nm 左右,随着质量分数逐渐增加,荧光强度也随之增强,溶液质量分数为 0.01% 时,荧光强度达到最大,其峰值为  $2.88 \times 10^6$  cps。当质量分数继续增大时,荧光强度开始下降,产生了荧光猝灭效应。

### 3.2 240 nm 的紫外光激发含三聚氰胺奶粉溶液的荧光光谱

用 240 nm 的紫外光激发奶粉溶液及含不同质量分数三聚氰胺的奶粉溶液获得荧光光谱,如图 3 所示。为去除噪声对数值分析带来的影响,对奶粉溶液和三聚氰胺质量分数为 0.001% 奶粉溶液的荧光光谱采用 FFT 低通滤波器进行滤波,所得曲线如图 4 所示。图中虚线表示奶粉溶液的荧光光谱,实线表示含三聚氰胺奶粉溶液的荧光光谱。从图 3 和图 4 可以看出,奶粉溶液的荧光光谱中有 6 个谱峰,分别位于 328 nm, 349 nm, 387 nm, 419 nm, 438 nm 和 447 nm,其中 328 nm 处为主峰位置,这是由于奶粉中含有多种化学成分所致。溶液中加入三聚氰胺

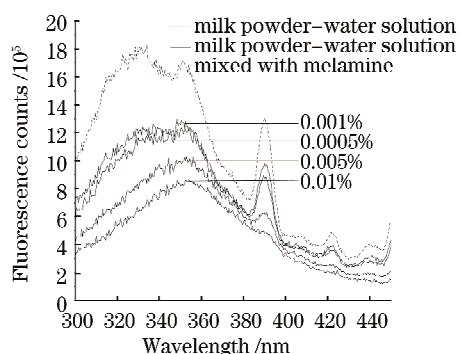


图 3 含不同质量分数三聚氰胺奶粉溶液的荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectra of milk powder solution mixed with melamine in various mass fraction

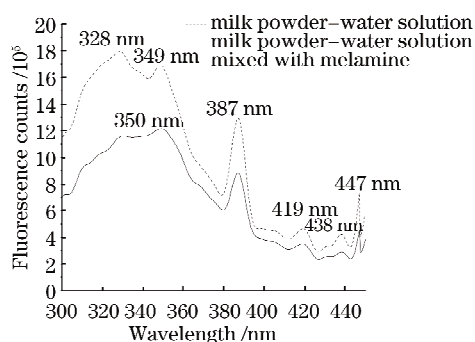


图 4 奶粉溶液及含三聚氰胺奶粉溶液的荧光光谱

Fig. 4 Fluorescence spectra of milk powder-water solution and milk powder solution mixed with melamine

后,发射的荧光光子数减少,荧光主峰的位置由 328 nm 变为 350 nm,与三聚氰胺溶液主荧光峰的位置一致,其它荧光峰的位置基本保持不变,且随着质量分数的变化其荧光强度改变,三聚氰胺含量为 0.001% 时开始产生荧光猝灭,但峰位置不变。

## 4 分析和讨论

1) 三聚氰胺溶液发射荧光的原因是由于三聚氰胺中含能吸收紫外光的生色基团  $-NH_2$ , 其激发态由环外的氨基上的 n 电子激发转移到环上而产生,由于它的电子云几乎与芳环上的  $\pi$  轨道成平行,因而实际上它共享了共轭  $\pi$  电子结构,同时扩大了共轭双键体系,从而产生了  $\pi \rightarrow \pi^*$  的电子跃迁。另外,三聚氰胺分子与水分子之间,通过水分子中氧原子的两对孤对电子中的一对与三聚氰胺分子形成氢键而缔合,形成链状结构进而出现了发光基团  $-OH$ , 在有一定带宽的紫外光激励下吸收光子能量,产生  $n \rightarrow \pi^*$  的电子跃迁,从而转变为受激发的单态<sup>[13]</sup>。激发态分子通过内转换过程把部分能量转移给周围分子,使较高激发态的电子很快回到最低激发态的最低振动能级。如果这种分子通过发射出相应的光子而回到基态的各个不同的振动能级,即可产生荧光,根据回到振动能级的不同,荧光的波长就不同,从而形成荧光发射带光谱<sup>[14]</sup>。

2) 同一波长的紫外光照射不同质量分数的三聚氰胺溶液时,荧光发射谱线轮廓基本相同,质量分数大于 0.01% 后,随着溶液质量分数增大到 0.08%, 荧光峰值出现了 4 nm 左右的蓝移。当溶液质量分数由 0.01% 增大时,荧光强度下降了,即出现了荧光自猝灭现象。其原因是随着溶液质量分数的增加,分子之间的距离减小,增加了分子间的碰撞几率和无辐射跃迁的几率,减小了辐射跃迁的几率,从而荧光发射的强度降低,引起荧光猝灭,遵守 Stern-Volmer 方程  $F_0/F = 1 + k_{sv}[Q]$ , 式中  $F_0$  为荧光猝灭时的荧光强度,  $F$  为没有荧光猝灭时的荧光强度,  $Q$  为猝灭剂,  $k_{sv}$  为 Stern-Volmer 猝灭常数。其次,由于能量共振转移的结果,三聚氰胺发射的荧光有一部分会被它自身的基态分子所吸收,且随着质量分数的增大,自吸收的现象会加剧,即使基态分子在吸收荧光后受激发重新发射荧光,由于荧光量子产率小于 1,其结果使荧光强度下降。另外由于三聚氰胺溶液中有氢键的作用,在高质量分数时可形成分子二聚体或多聚体,它们与单体具有不同的吸收光谱,往往并不发荧光或所发射的荧光比单体的弱,

它们的生成将引起溶液荧光强度的下降,且由于二聚体的第一电子激发单重态的能量比单体的第一电子激发单重态的能量低,因而二聚体可通过辐射能量转移或共振能量转移的过程猝灭单体的荧光。这种荧光猝灭效应可为研究三聚氰胺溶液的物理化学性质提供实验依据,并有助于研究三聚氰胺加入其他溶剂后的荧光强度变化规律。

3) 由于荧光强度对波长的导数值只与分析物的质量分数成正比<sup>[13]</sup>,即溶液的质量分数并不会影响物质结构即荧光峰位的变化,只会影响各成分产生的荧光光子数。为更准确地确定三聚氰胺溶液的荧光峰位置,在对 0.001% 的三聚氰胺溶液使用 FFT 滤波的基础上进行二阶导数处理,如图 5 所示。显然,三聚氰胺溶液的主荧光峰位于 350 nm 和 370 nm 左右。

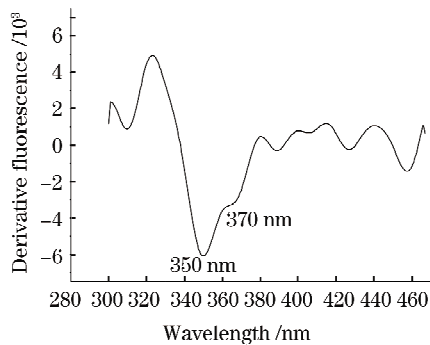


图 5 三聚氰胺水溶液的二阶导数荧光光谱

Fig. 5 Second derivative fluorescence spectrum of melamine-water solution

4) 奶粉溶液中加入三聚氰胺后,出现荧光强度变弱和荧光峰位置的变化。荧光强度变弱是因为出现了质量分数猝灭现象,而荧光峰位置的改变说明三聚氰胺对奶粉溶液的光谱产生了影响。为更好地分析含三聚氰胺奶粉溶液的荧光强度的变化规

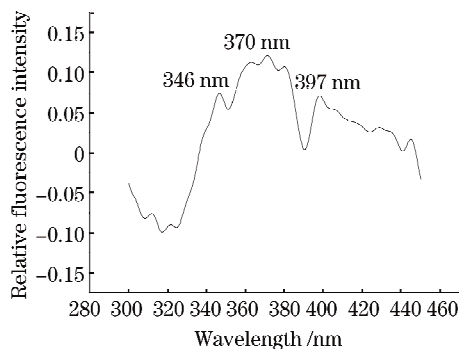


图 6 三聚氰胺的相对荧光强度谱图

Fig. 6 Relative fluorescence intensity spectrum of melamine

律,对 240 nm 紫外光激发的含三聚氰胺的奶粉溶液和奶粉溶液的荧光光谱的纵坐标分别进行比值变换,并将所得数据相减,得到三聚氰胺的相对荧光强度谱图,如图 6 所示。图中横坐标为波长,纵坐标为溶液中三聚氰胺的相对强度。可以看出,含三聚氰胺奶粉溶液与奶粉溶液的相对荧光强度最大值位于 370 nm 左右,与三聚氰胺溶液的次荧光峰位置重合。从图中还可以看出,在 346 nm 和 397 nm 处的相对荧光强度也较大,说明在奶粉溶液中加入三聚氰胺后有新的发光结构生成,其形成机理有待进一步研究。经计算在 370 nm, 346 nm 和 397 nm 处的相对强度分别为 0.12, 0.075 和 0.071, 进行纵坐标比值变换后的强度比分别为 1.27, 1.12 和 1.21。

## 5 结 论

通过对三聚氰胺溶液的荧光光谱进行实验研究,得到不同波长紫外光照三聚氰胺溶液的主荧光峰位置和最佳激励光波长;对三聚氰胺溶液发射荧光光谱的微观机理进行了分析,并解释了溶液中发生质量分数猝灭的原因;将含三聚氰胺奶粉溶液与奶粉溶液的荧光光谱进行了纵坐标比值变换分析,发现含三聚氰胺奶粉溶液的主荧光峰位置有明显变化,且其相对荧光强度最大值对应的波长位置与三聚氰胺溶液的次荧光峰位置重合。该方法为进一步研究三聚氰胺和乳类混合液的物理化学性质提供帮助。

## 参 考 文 献

- 1 He Lili, Liu Yang, Lin Mengshi *et al.*. A new approach to measure melamine, cyanuric acid, and melamine cyanurate using enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanosubstrates[J]. *Sens. & Instrumen. Food Qual.*, 2008, 2(1): 66~71
- 2 Michael S. Filigenzi, Birgit Puschner, Linda S. Aston *et al.*. Diagnostic determination of melamine and related compounds in kidney tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(17): 7593~7599
- 3 Fabien Silly, Adam Q. Shaw, Martin R. Castell *et al.*. Melamine structures on the Au(111) surface[J]. *J. Phys. Chem. C*, 2008, 112(30): 11476~11480
- 4 Han Bingbing, Song Wensheng, Li Xuejuan. Applications of melamine and its derivatives [J]. *Chemical Propellants & Polymeric Materials*, 2007, 5(6): 26~30  
韩冰冰, 宋文生, 李雪娟. 三聚氰胺及其衍生物的应用[J]. *化学推进剂与高分子材料*, 2007, 5(6): 26~30
- 5 Zhu Liangliang, Teng Qiwen, Wu Shi. Theoretical studies on hydrogen-bonding complexes of melamine and cyclotriene[J]. *Chemical J. Chinese University*, 2006, 27(4): 680~83  
朱亮亮, 滕启文, 吴师. 三聚氰胺和环三酮氢键复合物的理论研究[J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(4): 680~83

- 6 Yang Jing, Li Xiaorui. Preparation and wet strengthening properties of high solid content melamine-formaldehyde resin[J]. *Transactions of China Pulp and Paper*, 2005, **20**(2): 148~151  
杨 惊, 李小瑞. 高固含量三聚氰胺甲醛树脂的制备及应用研究[J]. *中国造纸学报*, 2005, **20**(2): 148~151
- 7 Feng Jianmin, Ji Junhong. Production and utilization and technical analysis of the cyanuramide industry in our country[J]. *Chemical Technology Market*, 2005, (2): 12~17  
冯建民, 吉俊红. 我国三聚氰胺生产应用现状及产业技术分析[J]. *化工科技市场*, 2005, (2): 12~17
- 8 Wang Zheng. Determination of melamine and the related analogs in animal food by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2008, **17**(2): 1~4  
王 征. GC-MS法测定动物食品中的三聚氰胺[J]. *福建分析测试*, 2008, **17**(2): 1~4
- 9 Jiang Chenyang, Fan Qian, Lin Deqing *et al.*. The test of melamine in feed by GC-MS[J]. *Feed Industry*, 2008, **29**(8): 48~50  
蒋晨阳, 范 倩, 林德清等. 气质联用法测定饲料中的三聚氰胺[J]. *饲料工业*, 2008, **29**(8): 48~50
- 10 Wang Hao, Liu Yanqin, Cao Hong *et al.*. Melamine determination of pet food by solid phase extraction and HPLC[J]. *Chinese J. Analytical Chemistry*, 2008, **36**(2): 273  
王 浩, 刘艳琴, 曹 红等. 固相萃取与高效液相色谱联用测定宠物食品中三聚氰胺[J]. *分析化学*, 2008, **36**(2): 273
- 11 Ding Tao, Xu Jinzhong, Li Jianzhong *et al.*. Determination of melamine residue in plant origin protein powders using high performance liquid chromatography-diode array detection and high performance liquid chromatography-electro spray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chinese J. Chromatography*, 2008, **26**(1): 6~9  
丁 涛, 徐锦忠, 李健忠等. 高效液相色谱-二极管阵列检测法及高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定植物源性蛋白中残留的三聚氰胺[J]. *色谱*, 2008, **26**(1): 6~9
- 12 Michael S. Filigenzi, Elizabeth R. Tor, Robert H. Poppenga *et al.*. The determination of melamine in muscle tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, **21** (24): 4027~4032
- 13 Chen Guozhen, Huang Xianzhi, Zheng Zhuzi *et al.*. Analysis Method of Fluorescence [M]. Beijing: Science Press, 1990, **49**: 81~85  
陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓等. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1990, **49**: 81~85
- 14 Wang Yanji, Song Zengfu. Fluorescence Analysis and Chromatogram Analysis[M]. Beijing: Peking University Press, 1995. 107  
王彦吉, 宋增福. 荧光分析与色谱分析[M]. 北京: 北京大学出版社, 1995. 107
- 15 Liu Zhouyi, Zhu Tuo, Gu Endong *et al.*. Acid orange II detection by fluorescence spectra[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(6): 1106~1110  
刘周忆, 朱 拓, 顾恩东等. 荧光光谱检测的酸性橙 II 的研究[J]. *光学学报*, 2008, **28**(6): 1106~1110
- 16 Luo Xiaosen, Ni Xiaowu, Lu Jian *et al.*. Study of fluorescent spectrum of blood induced by lights of different wavelengths[J]. *Chinese J. Lasers*, 2003, **30**(1): 93~96  
骆晓森, 倪晓武, 陆 建等. 不同波长光照射血液诱发的荧光光谱研究[J]. *中国激光*, 2003, **30**(1): 93~96
- 17 Chen Rong, Zeng Haishan, Huang Baohua *et al.*. Fluorescent spectrum of skin with trichrome vitiligo[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(1): 124~128  
陈 荣, 曾海山, 黄宝华等. 具有三种颜色的白癜风皮肤的荧光光谱[J]. *光学学报*, 2007, **27**(1): 124~128
- 18 Zhang Fang, Su Rongguo, Wang Xiulin *et al.*. Fluorescence characteristics extraction and differentiation of phytoplankton[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(12): 2052~2059  
张 芳, 苏荣国, 王修林等. 浮游植物荧光特征提取及识别测定技术[J]. *中国激光*, 2008, **35**(12): 2052~2059
- 19 Shi Aimin, Zhu Tuo, Gu Endong *et al.*. Study on fluorescent spectra of amaranth and ponceau 4R[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(11): 2237~2242  
史爱敏, 朱 拓, 顾恩东等. 苋菜红与胭脂红荧光光谱的比较分析[J]. *光学学报*, 2008, **28**(11): 2237~2242
- 20 Liu Xupeng, Su Rongguo, Zhang Chuansong *et al.*. Fluorescence discrimination technology for the red tide algae by spectra similarity index[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1): 115~119  
胡序朋, 苏荣国, 张传松等. 基于光谱相似性指数的赤潮藻荧光识别技术[J]. *中国激光*, 2008, **35**(1): 115~119