文章编号: 1673- 0062(2010) 02- 0094- 05

三聚氰胺分子印迹聚合物的合成与光谱学特性

肖 静水, 梁 俊, 彭 安国, 肖 锡林, 王 丽华, 刘 慧君*

(南华大学 化学化工学院, 湖南 衡阳 421001)

摘 要: 采用非共价印迹法, 以三聚氰胺为模板分子, 甲基丙烯酸为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 合成了三聚氰胺分子印迹聚合物. 实验表明该印迹聚合物对甲醇溶液中三聚氰胺具有良好的选择性结合能力, 对液态奶中的三聚氰胺的富集率可达 98% 以上. 并结合紫外光谱及红外光谱对分子印迹聚合物的合成及结合机理进行了初步解析.

关键词: 三聚氰胺; 液态奶; 印迹聚合物; 光谱学
中图分类号: O657. 3; O623 文献标识码: A

Synthesis and Spectral Chartacteristic of Molecularly Imprinted Polymers for Melamine

XIAO Jing-shui, LIANG Jun, PENG An-guo,
XIAO Xi-lin, WANG Li-hua, LIU Hui-jun*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: Melamine imprinted polymer particles were prepared by the copolymerization of methacrylic acid as monomer and ethylene glycol dimethacrylate as crosslinking agent where melamine was the imprint molecular in presence of 2, 2′- azo- bis- isobutyronitrile as initiator in methanol solution by non- covalent molecular imprinting method. The tests showed that the imprinted polymer beads can preconcentrate melamine in methanol solution with good selectivity and the enrichment rate of melamine from liquid milk can reach 98% or above. The synthesis and binding mechanism of melamine imprinted polymer were preliminary analysed by the application of UV and infrared spectram ethod.

Key words: Melamine; Liquid milk; Imprinted polymer; Spectroscopy

三聚氰胺 (melamine)是一种三嗪类含氮杂环有机化合物, 简称三胺, 俗称蛋白精, 又称蜜胺、三聚氰酰胺、氰脲三酰胺. 1834年首先由德国 Liebg用氰化钙和氯化铵加热制得, 大规模生产则是在20世纪 30年代. 三聚氰胺是一种用途广泛的基本有机化工原料, 在塑料、装饰、涂料和造纸等行

收稿日期: 2010- 04- 06
基金项目: 湖南省自然基金资助项目 (07JJ5004); 衡阳市科技局基金资助项目 (2009KJ02)
作者简介: 肖静水 (1972-), 男, 湖南衡东人, 南华大学化学化工学院讲师. 主要研究方向: 应用化学. * 通信作者.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

业有着广泛的用途.

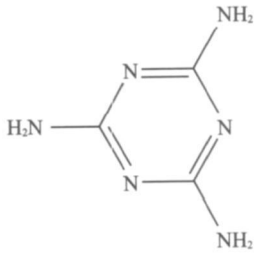


图 1　三聚氰胺的结构式

Fig 1　Structural formula of melamine

由于三聚氰胺属于生物惰性物质, 急性毒性很低[1], 所以人们对其危害并未给予关注. 但因其含氮量较高, 加入食品中可产生蛋白质含量虚高的假象, 因而被非法添加到牛奶以及其它蛋白制品中, 从而导致了 2007年 3月美国宠物的三聚氰胺中毒事件, 以及我国 2008年 9月出现大批婴幼儿肾结石病例. 因此对蛋白类食品中进行三聚氰胺含量的快速测定是一项重要的安全措施, 关于牛奶中的三聚氰胺检测国内已有不少报道[2-6], 多为色谱法, 对仪器要求高、试剂消耗大、费用高. 分子印迹学是近年发展起来的一种新方法, 十分简单, 易于操作, 它可为人们提供具有期望结构和性质的分子组合体. 现在这一技术已在许多领域, 如色谱分离、固相萃取、仿生传感、模拟酶催化、临床药物分析、吸附、膜分离[7]等展现了良好的应用前景. 近一、二年国内外关于三聚氰胺分子印迹聚合物的制备和应用研究已有报道[8-10], 有的成果还申报了专利[11]. 制备高选择性的三聚氰胺分子印迹聚合物对于液态奶中微痕量三聚氰胺的分离与富集和建立新的三聚氰胺检测方法都具有非常重要的意义.

本文利用本体聚合法合成了三聚氰胺分子印迹聚合物. 与非印迹聚合物相比, 该印迹聚合物对甲醇溶液中微量三聚氰胺表现出特异性选择吸附. 利用该印迹聚合物作为液态奶中的三聚氰胺的固相萃取剂, 富集率可达 98% 以上. 并借助光谱学原理对聚合物的合成、吸附机理进行了揭示与论证. 这将为液态奶中微量三聚氰胺的快速分离与检测开辟一条新路.

1　实验部分

1.1　试剂与仪器

试剂: 甲基丙烯酸 (AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 乙二醇二甲基丙烯酸酯 (Alfa公司), 偶氮二异丁腈、无水乙醇、甲醇、三氯乙酸 (AR, 上海试剂四厂), 三聚氰胺 (Fluka公司; 纯度 > 99.0%), 试验用水为二次蒸馏水. 甲基丙烯酸和乙二醇二甲基丙烯酸酯在使用前进行了减压蒸馏提纯, 偶氮二异丁腈进行了重结晶提纯.

仪器: SHA－C水浴恒温震荡器 (江苏恒丰仪器厂), 电子天平 (上海民桥精密科学仪器有限公司), DZ－3BC真空干燥箱 (天津市泰斯特公司), Lambda35型紫外可见分光光度计 (Perkin Elmer Instruments), 红外分光光度计 2－R Prestige(Shimadzu Scientific Instruments).

1.2　分子印迹聚合物的制备

准确称取三聚氰胺 40 mg(0.3 mmol)于安瓿瓶中, 加入 30 mL甲醇, 搅拌溶解后再加入甲基丙烯酸 5 mmol(420 μL), 乙二醇二甲基丙烯酸酯 25 mmol(4 720 μL). 常温下搅拌使三聚氰胺、甲基丙烯酸和乙二醇二甲基丙烯酸酯充分混合, 加入偶氮二异丁腈 50 mg, 振荡 15 min, 然后充氮气除氧 20 min, 密封, 放入 SHA－C水浴恒温震荡器中, 恒温 50 ℃, 水浴振荡反应 24 h, 得到白色聚合物, 将聚合物研磨, 过八号筛, 收集 150目的聚合物微球, 用 50 mL 1.0% (体积分数)的三氯乙酸的甲醇溶液于索氏提取器洗脱除去模板分子, 然后用 100 mL甲醇清洗 3~4次, 再用蒸馏水洗涤干净, 60 ℃下真空干燥 24 h, 得三聚氰胺分子印迹聚合物微球.

非印迹聚合物除不加三聚氰胺外, 按上述方法制备.

1.3　印记聚合物对三聚氰胺的吸附试验

称取 10 mg三聚氰胺溶于 30 mL甲醇中二份, 各加入 0.5 g印迹聚合物和非印迹聚合物, 放置于烧杯中, 磁力搅拌 12 h, 离心 10 min(5 000 r/min), 液相中三聚氰胺的含量以光度法测定, 固相装入自制交换柱用 20 mL 0.2% (体积分数)的三氯乙酸的甲醇溶液洗脱 (洗脱液流速: 0.4 mL/min), 洗脱液中三聚氰胺的含量以光度法测定 (标准曲线法, 测定波长: 240 nm), 最后计算聚合物的吸附量.

1.4　印迹聚合物在液态奶中三聚氰胺含量检测中的应用研究

取市售伊利牌纯牛奶 50 mL(经检测不含三聚氰胺)加入 10 mg三聚氰胺, 加入 30 mL甲醇搅拌 1 h后, 离心 10 min(10 000 r/min), 取上层清液加入 0.5 g三聚氰胺分子印迹聚合物, 以下同吸附试验. 非印迹聚合物的吸附试验与上述同.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2 结果与讨论

2.1 合成路线图

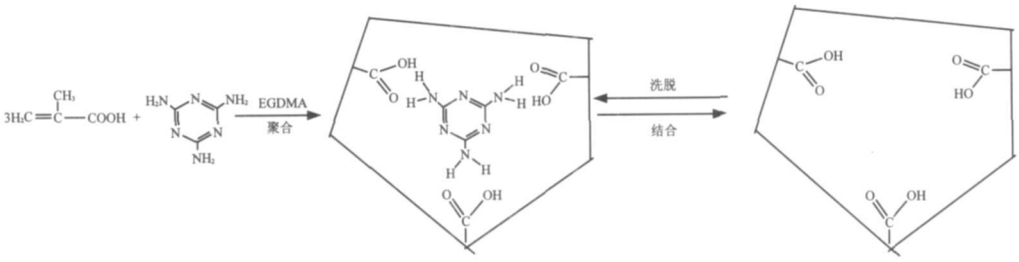
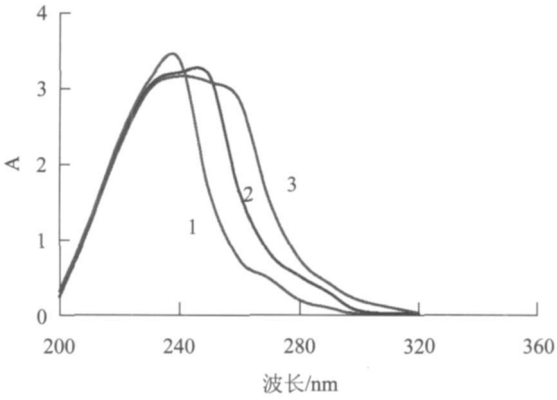


图 2 三聚氰胺分子印迹聚合物合成路线图

Fig. 2 Synthetic route of melamine imprinted polymer

2.2 紫外光谱分析

保持三聚氰胺的加入量和甲醇体积不变,仅改变甲基丙烯酸的加入量而配制得到一系列的溶液,在 200~360 nm 波长范围内扫描得其吸收光谱.结果如图 3(图中线 1、2、3中 MAA 与三聚氰胺的配比分别为 1∶4、1∶8和 1∶12),由图 3可看出,溶液的最大吸收区域随体系中甲基丙烯酸的含量增加向长波方向移动,这表明三聚氰胺与甲基丙烯酸间产生了相互作用,据三聚氰胺与甲基丙烯酸的结构可推测该作用可能为氢键作用.



1三聚氰胺-甲基丙烯酸(1∶4)的甲醇溶液
2三聚氰胺-甲基丙烯酸(1∶8)的甲醇溶液
3三聚氰胺-甲基丙烯酸(1∶12)的甲醇溶液

图 3 不同配比三聚氰胺-甲基丙烯酸的甲醇溶液的紫外光谱曲线

Fig. 3 The ultraviolet spectra of different ratio melamine-MAA in methyl solution

K. matsui[12]等人利用 NMR 方法确证氨基与甲基丙烯酸的羧基间氢键的存在(氢键形成导致氨基质子信号向低场移动).依非共价法印迹原理可采用适当条件通过本体聚合法得到三聚氰胺分子印迹聚合物.

2.3 红外光谱分析

用 KBr(1∶9)压片法,测定印迹聚合物在红外区 4000~400 cm^{-1}下的吸收谱带.甲基丙烯酸和乙二醇二甲基丙烯酸酯的红外谱图分别为图 6、图 7.图 7中 1725 cm^{-1}附近有较强的吸收峰,是乙二醇二甲基丙烯酸酯中的 C=O 的伸缩振动峰,1638 cm^{-1}为 C=C 的伸缩振动峰.图 6中 3109 cm^{-1}和 2880 cm^{-1}区形成较宽的峰值是甲基丙烯酸的 O=H 伸缩振动峰,1635 cm^{-1}为 C=C 双键的伸缩振动峰.三聚氰胺分子印迹聚合物的红外图谱中 1635 cm^{-1}附近的 C=C 双键的吸收峰很小,说明交联剂和功能单体在本实验条件下进行了很好的交联聚合,残留部分很少.图 5洗脱后印迹聚合物中 的伸缩振动峰在 3632 cm^{-1},图 4洗脱前印迹聚合物中 3606 cm^{-1}附近较宽的吸收峰为分子印迹聚合物中羧酸基团中的 O-H 的伸缩振动峰,氢键的形成使 O-H 的伸缩振动峰的振动频率减少,向低波移动,且吸收峰变宽,说明印迹聚合物中 $-NH_2$ 与 -COOH 间存在氢键作用;图 4中 1738 cm^{-1}附近有较强的 的伸缩振动峰,说明乙二醇二甲基丙烯酸酯和甲基丙烯酸间发生聚合,且功能羧酸基团的振动峰无明显变化.因此,功能单体与交联剂聚合后,能将功能单体与模板分子形成的聚合物固定下来,将模板分子洗脱后印迹聚合物就会留有可以同模板分子相互作用的化学基团及固定的模板孔穴.

2.4 印记聚合物的吸附性能及在液态奶中三聚氰胺含量检测中的应用研究

由表 1的结果可以看出:非印迹聚合物对标样中三聚氰胺的吸附量较少,六次测得的平均值仅为 2.33%,对液态奶样的平均值为 1.89%;

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

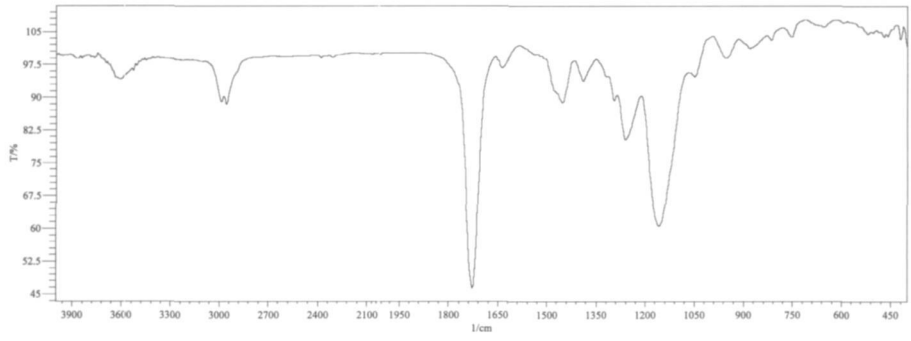


图 4　三聚氰胺分子印迹聚合物的红外光谱图(未洗脱)

Fig. 4　The IR spectra of melamine imprinted polymer(without elution)

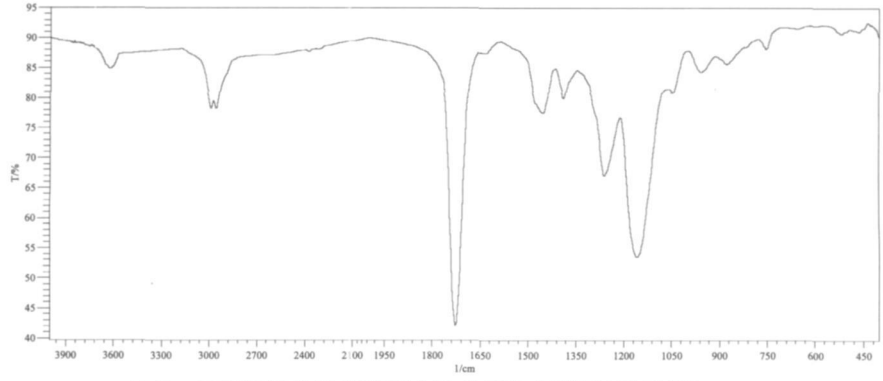


图 5　三聚氰胺分子印迹聚合物的红外光谱图(洗脱后)

Fig. 5　The IR spectra of melamine imprinted polymer(eluted)

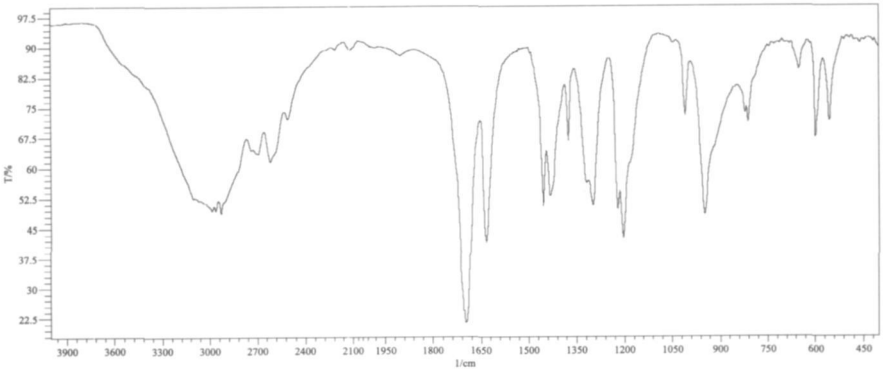


图 6　甲基丙烯酸的红外光谱图

Fig. 6　The IR spectra of MAA

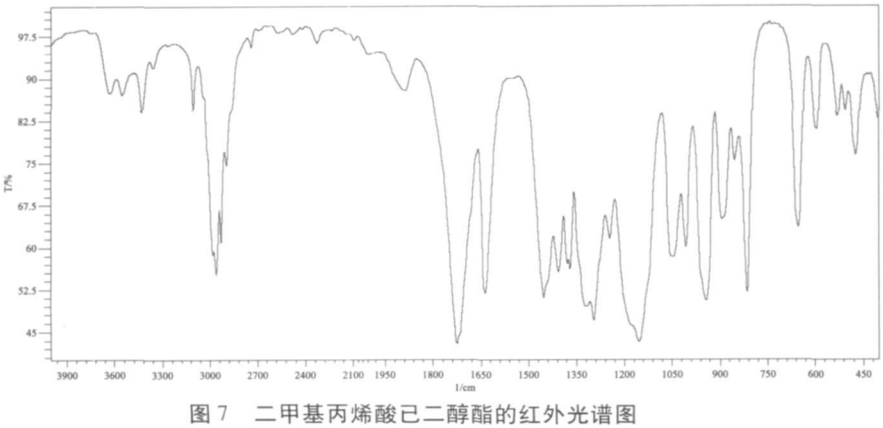


图 7　二甲基丙烯酸已二醇酯的红外光谱图

Fig. 7　The IR spectra of EGDMA

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

而印迹聚合物对标样中三聚氰胺的吸附效果很好,其富集率达到了 98.7%,对液态奶样的平均值为 98.1%;结果说明三聚氰胺分子印迹聚合物对三聚氰胺有识别作用,这与其具有和三聚氰胺结构相匹配的印迹孔穴相关,而同样条件下聚合得到的非印迹聚合物虽然也含有相应的官能基团,有吸附作用,但没有形成相应大小的空穴,故其对三聚氰胺的吸附量很少.这一结果对于液态奶中三聚氰胺的前处理及基于分子印迹技术形成新的三聚氰胺检测方法具有重要意义.

表 1 印迹聚合物与非印迹聚合物吸附对比 (n = 6)

Table 1 Contrast of absorption of imprinted polymer and non-imprinted polymer(n = 6)

	富集率(%)	
	标样	液态奶样
印迹聚合物	98.7±2.2	98.1±2.5
非印迹聚合物	2.33±0.48	1.89±0.42

3 结论

利用三聚氰胺与甲基丙烯酸间的氢键作用力,采用非共价印迹法原理制备了三聚氰胺分子印迹聚合物,研究了印迹聚合物的合成、吸附识别机理,得到如下结论:

1)在甲醇溶剂中,三聚氰胺与甲基丙烯酸间存在氢键相互作用,可形成三聚氰胺-甲基丙烯酸复合物.

2)通过对比印迹聚合物、功能单体以及交联剂的红外光谱发现在印迹聚合物中乙二醇二甲基丙烯酸酯与甲基丙烯酸得到了较强的聚合,三聚氰胺-甲基丙烯酸复合物结构在印迹聚合物中被保留,印迹聚合物中三聚氰胺洗脱后可留下了能与三聚氰胺分子结构、大小相匹配的印迹孔穴,这是印迹聚合物对三聚氰胺具良好选择吸附特性吸附原因所在.

3)本法制备的三聚氰胺分子印迹聚合物对甲醇溶液中的微量三聚氰胺有识别作用,富集率可达 98%以上,而同样方法制备的非印迹聚合物对三聚氰胺的富集率很低.

4)本法所得三聚氰胺分子印迹聚合物对液态奶中微量的三聚氰胺有富集作用,该印迹聚合物可望应用于液态奶中微量三聚氰胺的分离与检测,但仍需作进一步深入研究.

参考文献:

[1] 林祥海, 王建峰, 贾广乐, 等. 三聚氰胺的毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(3): 216-218.

[2] 刘书妤, 徐慧婷, 温绍国. 牛奶中三聚氰胺检测的前处理方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(11): 2562-2563.

[3] 王 洋, 王一梅. 奶粉中三聚氰胺的检测[J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 20(2): 84-85.

[4] 陆艳霞, 杨立刚, 赵道远, 等. 浊点萃取—高效液相色谱法对牛奶中三聚氰胺的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(10): 1221-1224.

[5] 李锋格, 姚伟琴, 苏 敏, 等. 气相色谱—质谱法快速测定牛奶中三聚氰胺和三聚氰酸[J]. 色谱, 2009, 27(2): 233-236.

[6] 肖锡林, 廖力夫, 肖静水, 等. 三聚氰胺的 HPLC-DAD 检测新方法研究[J]. 南华大学学报(自然科学版), 2009, 23(2): 83-86.

[7] 小宫山真, 竹内俊文, 务川高志, 等. 分子印迹学-从基础到应用[M]. 北京: 科学出版社, 2006.

[8] 周文辉, 林黎明, 郭秀春, 等. 三聚氰胺分子印迹聚合物的制备及奶制品中三聚氰胺的分离[J]. 分析测试学报, 2009, 28(6): 287-291.

[9] Rongning Liang, Ruiming Zhang, WeiQin. Potentiometric sensor based on molecularly imprinted polymer for determination of melamine in milk[J]. Sensors and Actuators B, 2009, 141: 544-550.

[10] 杨海军. 三聚氰胺分子印迹整体固相微萃取头的制备及在液相色谱分析中的应用研究[D]. 广州: 中山大学, 2009.

[11] 贺利民, 曾振灵, 郑亚秋, 等. 用于检测三聚氰胺的分子印迹聚合物及其制备方法: 中国, CN200910039533.X[P]. 2009-10-21.

[12] Jun Matsui, Yoko Miyoshi, Otto Doblhoff-Dier, et al. A molecularly imprinted synthetic polymer receptor selective for atrazine[J]. Anal Chem, 1995, 67(23): 4404-4408.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net