中华人民共和国国家知识产权局

邮政编码: 110004

辽宁省沈阳市和平区三好街24号 沈阳科苑专利商标代理有限公司 许宗富 周秀梅

发文日期:

专利申请受理通知书

根据中华人民共和国专利法第二十八条及其实施细则第三十九条、第四十条的规定, 申请 人提出的专利申请国家知识产权局专利局予以受理。现将确定的申请号和申请日通知如下:

申请号:

200910013839.8

申请日:2009 年 1 月 9 日

申请人:烟台海岸带可持续发展研究所

发明名称:一种三聚氰胺的检测方法及其装置

经核实确认国家知识产权局专利局收到如下文件:

每份页数:2

分数:2 权利要求书 每份页数:2 份数:2

说明书附图 每份页数:2

份数:2

费用减缓请求书

摘要

每份页数:1

分数:2 份数:2

说明书 每份页数:7 专利代理委托书

费用减缓请求证明

- 1. 根据专利法第二十八条规定,申请文件是邮寄的,以寄出的邮戳日为申请日。若申请人发现上述申请日与邮寄 申请文件之日不一致时,可在汝到本通知书起两个月内向国家知识产权局专利局受理处提交意见陈述书及挂号 条存根,要求办理更正申请日于续。
- 2. 申请号是国家知识产权局给予每一件被受理的专利申请的代号,是该申请最有效的识别标志。申请人向我局办 理各种于续时,均应准确、清晰写实申请号。
- 8. 寄给事至员个人的文件或汇款不具法律效力。
- 中国文件、分案申请、要求本区优先权的申请应直接存交国家知识产权局专利局要注处



发 明 专 利 请 求 书

		请按照	本表背面	"填表注意	事项"	正确填写本表各	栏				 	2框内容	生 生	利局均	写	
6										1	_					
发名										请号		(发明)			
明称	一种三聚氰胺的检测方法及							其装置		'	分案					
											交日					
7										3						
发	秦伟 梁荣宁 张锐明									<u> </u>	中请日					
明								(④ 费减 审批								
人									⑤ 挂号号码							
8		姓名或名称 烟台海岸带可持续发展研究所														
	第一	单位代码或个人身份证号														
申	申请	国籍或居所地国家或地区 中国							ŧ	电 话						
 		<u> </u>	邮政	064000		1、自治区、 1族主名称	, I . - /	<u>جار</u> -			5(县		田ム→	=		
	人	地址	堀 城区	264003 (乡)、] E	[辖市名称	山东	首		2	1	称	因台市)		
请			街道、门牌号 莱山区春晖路 17 号													
	第二	姓名	姓名或名称													
人	申请人	国籍	国籍或居所地国家或地区						电 话							
		邮政编码 地 址														
	第三申请人	姓名或名称														
		国籍或居所地国家或地区							电	话						
		邮政编码 地址														
⑨联 系	姓	名	名 电话													
分	曲区	邮政编码 地 址														
⑩ 确知	定非	第一	申请人之	为代表人	声明		特	声明	第	申请/	人为耳	ョ请人的	的代表	人		
(1)	代	名 称 沈阳科苑专利商标代理有限公						夏公司]				代	码	210	02
	理机	邮政编码 110004 电 话 239833							983373							
代	构	地	地 址 辽宁省沈阳市和平区三好街 24 号													
理	代理人	姓 名 许宗富						代	姓	名		秀梅				
		工作	证号	210020	05210. 8			理人	工作	乍证号	210	020663	9. 1			
	1	电	话	23983	3375			2	电	话	239	83376				
②分案申请 原案申请号							原案申请日 年 月 日					日				

11101 (第1页) 2002.4

① 发名 明称	一种三聚氰胺的检测方法及其装置											
①生物材料	保藏单位	<u> </u>			地	· 址						
样品保藏	保藏日期	期 年月日			保藏	编号	分类命名					
要求优先权声	先申请]或地区	在先	E申请日		在先	申请号	6 不丧失新颖性宽限期声明		已在中国政府主办或承认 的国际展览会上首次展出 已在规定的学术会议或技 术会议上首次发表 他人未经申请人同意而泄 露其内容			
明							17 保密 请求		本专利申请可能涉及国家 重大利益,请求保密处理 是否已提交保密证明材料			
18 申请文	件清单					19 附加文						
1.请求书 2.说明书 3.摘要附 4.权利要 5.说明书 6.说明书	商要 2 图 求书 2	 2 份 每份 2 页 2 份 每份 1 页 份 每份 2 份 每份 2 页 2 份 每份 2 页 2 份 每份 2 页 2 份 每份 3 要用减缓请求书 2 要用减缓请求证明 3 要用减缓请求证明 3 要所审查请求书 3 实质审查请求书 3 实际审查请求书 3 实际参考资料 3 专利代理委托书 						明				
权利要求的	的项数 10				□ 经证明的在先申请文件副本 份数 □ 原案申请文件副本 □ 核苷酸或氨基酸序列表 □光盘 □软盘 □ 其他证明文件(注明文件名称)							
20 申貸人			1月8	-		21 专利局双	寸文件 流	青单白	的审核 年 月 日			

11101 (第2页) 2002.4

说明书摘要

本发明涉及三聚氰胺的检测,具体地说是一种食品中三聚氰胺含量的检测方法及其装置。具体为将待测样品经预处理去除蛋白质,所得清液以恒定流速流过一阴阳离子交换串联柱,而后将待测清液和缓冲溶液移入待测试样池中,将以分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极插入其中,产生电位信号,再根据标准曲线通过电位差值得待测样品中三聚氰胺的含量。装置为阴阳离子交换串联柱的一端、第二流动注射装置和待测试样容器分别与三通阀相连接,阴阳离子交换串联柱的另一端通过第一流动注射装置,连接有超微孔蛋白质滤器,第二流动注射装置上连接有缓冲溶液池;在待测试样容器内插有分子印迹聚合物膜修饰的离子选择性电极。本发明检测三聚氰胺,具有灵敏度高、操作成本低以及适合现场监测等优点。

权 利 要 求 书

- 1. 一种三聚氰胺的检测方法,其特征在于: 将待测样品经预处理去除蛋白质,所得清液以恒定流速流过一阴阳离子交换串联柱,使其去除阴阳离子干扰,而后将待测清液和 pH=3-5 醋酸-醋酸锂缓冲溶液移入待测试样池中,将以分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极插入其中,产生电位信号,再根据采用标准加入法以三聚氰胺标准物产生的标准电位信号的标准曲线,通过电位差值得待测样品中三聚氰胺的含量。
- 2. 按权利要求 1 所述的三聚氰胺的检测方法, 其特征在于: 所述分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极: 为在离子选择性电极头上黏附聚合物敏感膜, 所述为敏感膜为将聚合物基体材料、增塑剂、分子印迹聚合物颗粒和阳离子交换剂按重量份数比为 20-40: 40-80: 0.2-20: 0.1-10 混合,而后融入到四氢呋喃溶液中, 搅拌使之成为均匀溶液, 在室温下自然挥发即可。
- 3. 按权利要求 2 所述的三聚氰胺的检测方法, 其特征在于: 所述聚合物基体材料为聚氯乙烯、聚丁基丙烯酸酯、聚丙烯酸丁酯、聚醚酰亚胺、橡胶或溶胶凝胶膜; 增塑剂为邻-硝基苯辛醚 (o-NPOE)、二-2-乙基已基癸酯、癸二酸二丁酯或癸二酸二辛酯; 阳离子交换剂为四 (3,5-二 (三氟甲基)苯基) 硼酸钠。
- 4. 按权利要求 1 或 2 所述的三聚氰胺的检测方法,其特征在于: 所述的分子印迹聚合物颗粒是将三聚氰胺模版分子、单体甲基丙烯酸(MAA)和交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)按摩尔分数比 1: 3-4: 2-20混合,加入到反应溶剂中使上述物质混合均匀并超声 10-30min,而后再加入偶氮二异丁腈(AIBN),存在下 60-90℃热引发聚合 12-24h 得白色块状聚合物,将白色块状聚合物用甲醇/乙酸洗脱,而后再用热的超纯水洗脱,直到洗脱液在紫外吸收光谱中 λ =235nm 处无吸收峰为止,即得分子印迹聚合物。
- 5. 按权利要求 4 所述的三聚氰胺的检测方法, 其特征在于: 所述引发聚合后白色块状聚合物经研磨、筛分,取 100-300 目聚合物用甲醇/乙酸(8:2, v/v)混合溶剂连续洗脱三次,每次 2h,后再采用热的超纯水洗脱,所得分子印迹聚合物颗粒 300-500 目的作为分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极敏感膜。
- 6. 按权利要求 4 所述的三聚氰胺的检测方法, 其特征在于: 所述的反应溶剂为苯、氯仿或 N, N-二甲基甲酰胺。
- 7. 一种按权利要求 1 所述的三聚氰胺的检测装置,其特征在于: 阴阳离子交换串联柱(3)的一端、第二流动注射装置(5)和待测试样容器(6)分别与三通阀(7)相连接,阴阳离子交换串联柱(3)的另一端通过第一流动注射装置(2)连接有超微孔蛋白质滤器(1),第二流动注射装置(5)上连接有缓冲溶液池(4);在待测试样容器(6)内插有分子印迹聚合物膜(12)修饰的离子选择性电极(8)。

- 8. 按权利要求 7 所述的三聚氰胺的检测装置, 其特征在于: 离子计(9) 分别与分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极(8) 和参比电极(10) 相连, 分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极(8) 内插有内参比电极(11)。
- 9. 按权利要求 7 所述的三聚氰胺的检测装置, 其特征在于: 所述超微孔滤器滤膜孔径≤0. 45 μm。
- 10. 按权利要求 7 所述的三聚氰胺的检测装置, 其特征在于: 所述阴阳离子交换串联柱为阴离子交换柱在前阳离子交换柱在后, 阴离子交换树柱内填充物为 717 强碱型离子交换树脂, 阳离子交换树脂内填充物为 732 强酸型离子交换树脂。

说明书

一种三聚氰胺的检测方法及其装置

技术领域

本发明涉及三聚氰胺的检测,具体地说是一种食品中三聚氰胺含量的检测方法及其装置。

背景技术

三聚氰胺(Melamine)是一种重要的氮杂环有机化工原料,是重要的尿素后加工产品。三聚氰胺传统的检测方法有重量法、升华法。近几年发展起来的检测三聚氰胺的方法有试剂盒检测法(ELISA)、高效液相色谱法和气质联用法,但这些方法的检出限较高 (>5 mg/Kg),或仅能检测简单的基质,不能满足食品中三聚氰胺残留检测需要。

发明内容

本发明的目的在于克服已有色谱分析技术的不足,提供一种食品中特 别是原料乳及其制品中三聚氰胺的检测方法及其装置。

本发明另一目的在于提供一种实现上述检测的分子印迹聚合物膜为基础的离子选择性电极。

为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

三聚氰胺的检测方法:将待测样品经预处理去除蛋白质,所得清液以恒定流速流过一阴阳离子交换串联柱,使其去除阴阳离子干扰,而后将待测清液和 pH=3-5 醋酸-醋酸锂缓冲溶液移入待测试样池中,将以分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极插入其中,产生一定的电位信号,再根据采用标准加入法以三聚氰胺标准物产生的标准电位信号的标准曲线,通过电位差值得待测样品中三聚氰胺的含量。

所述待测样品预处理过程:将待测样品加入到有机溶剂乙醇中使其混合均匀,使得蛋白质变性,同时样品中的三聚氰胺进入溶剂相,而后离心, 使得待测样品经预处理去除蛋白质。

所述分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极:为在离子选择性电极头上黏附聚合物敏感膜,所述为敏感膜为将聚合物基体材料、增塑剂、分子印迹聚合物颗粒和阳离子交换剂按重量份数比为 20-40: 40-80: 0.2-20: 0.1-10 混合,而后融入到四氢呋喃溶液中,搅拌使之成为均匀溶液,在室温下自然挥发即可。

所述聚合物基体材料为聚氯乙烯、聚丁基丙烯酸酯、聚丙烯酸丁酯、聚醚酰亚胺、橡胶或溶胶凝胶膜;增塑剂为邻-硝基苯辛醚(o-NPOE)、二-2-乙基己基癸酯、癸二酸二丁酯或癸二酸二辛酯;阳离子交换剂为四(3,5-二(三氟甲基)苯基)硼酸钠。

所述三聚氰胺的检测方法,其特征在于:所述的分子印迹聚合物颗粒是将三聚氰胺模版分子、单体甲基丙烯酸(MAA)和交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)按摩尔分数比 1: 3-4: 2-20 混合,加入到反应溶剂中使上述物质混合均匀并超声 10-30min,而后再加入偶氮二异丁腈(AIBN),

存在下 60-90℃热引发聚合 12-24h 得白色块状聚合物,将白色块状聚合物用甲醇/乙酸洗脱,而后再用热的超纯水洗脱,直到洗脱液在紫外吸收光谱中 λ=235nm 处无吸收峰为止,即得分子印迹聚合物。所述的反应溶剂为苯、氯仿或 N,N-二甲基甲酰胺。

所述引发聚合后白色块状聚合物经研磨、筛分,取 100-300 目聚合物用甲醇/乙酸 (8: 2, v/v)混合溶剂连续洗脱三次,每次 2h,后再采用热的超纯水洗脱,所得分子印迹聚合物颗粒 300-500 目的作为分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极敏感膜。

三聚氰胺的检测装置: 阴阳离子交换串联柱 3 的一端、第二流动注射装置 5 和待测试样容器 6 分别与三通阀 7 相连接,阴阳离子交换串联柱 3 的另一端通过第一流动注射装置 2 连接有超微孔蛋白质滤器 1,第二流动注射装置 5 上连接有缓冲溶液池 4;在待测试样容器 6 内插有分子印迹聚合物膜 12 修饰的离子选择性电极 8。

离子计 9 分别与分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 和参比电极 10 相连,分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 内插有内参比电极 11。

所述超微孔滤器滤膜孔径≤0.45 μm。所述阴阳离子交换串联柱为阴离子交换柱在前阳离子交换柱在后,阴离子交换树柱内填充物为 717 强碱型离子交换树脂,阳离子交换树脂内填充物为 732 强酸型离子交换树脂。

检测原理: 将含有一定量三聚氰胺的食品样品加入一定量的有机溶剂, 使得蛋白质变性,同时样品中的三聚氰胺进入溶剂相,离心,后通过超微 孔过滤装置以及阴阳离子交换串联柱去除掉蛋白质和绝大部分的阴阳离 子,避免了蛋白质大分子和阴阳离子对离子选择性电极的干扰,并在一定 的 pH 值下将其转化为三聚氰胺离子。采用离子选择性电极测定待测液中三 聚氰胺的浓度,由此可知食品样品中三聚氰胺的含量。

本发明的优点在于:

- 1. 本发明采用分子印迹技术为基础的离子选择性电极检测食品中的三聚氰胺含量,避免了使用大型色谱分析仪器,使得测试成本大大降低,并使得三聚氰胺的定量现场监测成为可能,因而本发明将在食品检验、农产品检验、生产等方面发挥巨大的作用。
- 2. 本发明结合含自动控制的流动注射技术,易于实现分析过程的自动化、连续化,适合于大批次样品的在线动态分析监测。
- 3. 本发明电极制备简单,易于小型化,操作简单方便,灵敏度和准确度较高。本发明电极测定对Na⁺离子选择性系数为-4.66(\pm 0.05)。电极在1×10⁻²-5×10⁻⁶mo1/L的三聚氰胺溶液中有较好的能斯特响应,斜率为51mV,检出限可达10⁻⁶mo1/L。
- 4. 由于三聚氰胺在水中呈弱碱性,但在酸性介质条件下,三聚氰胺以阳离子形式存在,本发明采用分子印迹聚合物敏感膜离子选择性电极对牛奶等食品中的残留三聚氰胺进行检测。将三聚氰胺离子选择电极和外参比电极(如甘汞电极)浸入待测含三聚氰胺的溶液,构成原电池。当三聚氰胺离子选择电极与含三聚氰胺的试液接触时,电池的电动势E随溶液中三聚氰胺离子活度变化而改变。该原电池的电动势与三聚氰胺离子活度的对数呈线

性关系,遵守能斯特方程。故通过测量电极与已知浓度溶液组成的原电池电动势和电极与待测浓度溶液组成的原电池电动势,即可计算待测样品中的浓度。所用的定量方法是标准曲线法和标准加入法。本发明实验结果表明,三聚氰胺阳离子在分子印迹聚合物膜离子选择电极上具有强的电位响应信号,食品中的其它离子不干扰测定。

5.本发明建立了一套准确、可靠、灵敏度高的检测食品中三聚氰胺的方法,不添加入任何化学试剂,在室温条件下现场、快速、准确测定三聚氰胺,同时,还具有操作简单方便、灵敏度高和准确度高等优点,切适用于农业检验、生产等实践过程。

附图说明

图1为本发明测定装置的示意图。

图2为本发明电极的示意图。

图3为本发明装置在乙醇/醋酸-醋酸锂缓冲溶液中测定不同浓度的三聚氰胺的标准工作曲线。

图4为本发明装置在乙醇/醋酸-醋酸锂缓冲溶液中测定牛奶中不同浓度的三聚氰胺的工作曲线。

图5为本发明装置在乙醇/醋酸-醋酸锂缓冲溶液中测定奶粉中不同浓度的三聚氰胺的工作曲线。

具体实施方式

实施例1

以本发明测试某品牌纯牛奶中三聚氰胺的含量为例,其现阶段牛奶中 无三聚氰胺存在。其测定步骤如下:

a. 分子印迹聚合物的制备:取 352mg 三聚氰胺标准品和 948 μ1 预先真空蒸馏过的α-甲基丙烯酸单体加入到 250ml 圆底烧瓶中,静置 5min,再将上述混合的物质中加 6.3ml 交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯以及 123mg 引发剂偶氮二异丁腈,超声振荡 10min,待混合均匀后,加入 100ml 经一次蒸馏的苯溶剂于以上混合物中,继续超声振荡 10min,最后通氮气 10min,以除去反应溶液中存在的氧气,密封。将上述反应容器移至油浴中,于 75℃下反应 17h,得白色固体颗粒。

将上述白色固体颗粒于玛瑙研钵中粉碎研磨,过筛,选取 100-200 目 500mg 上述白色固体颗粒将其用甲醇/乙酸 (8: 2, v/v)混合溶剂连续清洗三次,每次 2h; 再采用 50ml 热超纯水连续洗涤多次,直至于紫外吸收光谱下 λ=235nm 处无吸收峰为止,所得颗粒经进一步研磨,粒径在 300-400 目的颗粒作为传感器材料,备用。

b. 电极的制备: PVC 颗粒、邻-硝基苯辛醚、分子印迹聚合物颗粒和四(3,5-二(三氟甲基)苯基) 硼酸的混合物共 400mg, 其中为 30.78wt% PVC 颗粒、61.56wt%邻-硝基苯辛醚, 6.16wt%分子印迹聚合物颗粒和 1.5wt%四(3,5-二(三氟甲基)苯基) 硼酸钠,移入到 3.5m1 四氢呋喃溶液中,超声、搅拌 4h 使之分散均匀,并在室温下自然挥发 12h,即得到分子印迹聚合物敏感膜,厚度约为 200μm。利用打孔器将敏感膜切割成 0.6cm 直径大小的均匀圆形切片,以四氢呋喃和 PVC 的混合液将敏感膜黏附到聚四氟乙烯管

顶管。电极在使用前应以 10⁻⁴mo1/1 三聚氰胺(醋酸-醋酸锂缓冲溶液, pH=3.7)活化 24h。

c. 检测装置: 阴阳离子交换串联柱 3 的一端、第二流动注射装置 5 和样品收集池 6 分别与三通阀 7 相连接,阴阳离子交换串联柱 3 的另一端通过第一流动注射装置 2 连接有超微孔蛋白质滤器 1,第二流动注射装置 5 上连接有缓冲溶液池 4;在样品收集池 6 内插有分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 (参见图 1)。所述阴阳离子交换串联柱为阴离子交换柱在前阳离子交换柱在后,阴离子交换树脂柱内填充物为 717 强碱型离子交换树脂(上海国药集团化学试剂有限公司)。

电极: PXSJ-216L 离子计 9 分别与分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极工作电极 8 和外参比电极饱和甘汞电极 10 相连,分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 内插有内参比电极 Ag/AgC1 电极 11, PXSJ-216L 离子计测定电位值(参见图 2)。同时 10⁻⁴mo1/L 的三聚氰胺内充液注入分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极内,并且底部黏附分子印迹聚合物敏感膜 12,离子选择性电极为工作电极正极,饱和甘汞电极为参比电极为负极,正极与负极通过导线与 PXSJ-216L 离子计相连。

- d. 取 10ml 某品牌纯牛奶样品,加入 0. 37mg 三聚氰胺,超声振荡 10min 混合均匀。加入 10ml 无水乙醇和 10ml 超纯水溶液,离心 5min (转速 15000rpm),后将上清液通过 0. 45 μm 微孔过滤装置滤去大分子蛋白质及其它不溶物。取下层清液经由第一流动注射装置的蠕动泵以 0. 2ml/min 的流速将清液连续泵入阴阳离子交换树脂串联柱,离子交换柱出口与三通样品收集池相连;同时缓冲溶液池内的 20ml 醋酸-醋酸锂缓冲溶液 (pH=3.7)由第二流动注射装置的蠕动泵将缓冲液泵入通过三通相连的样品收集池中,使其与待测样品混合,并通过样品收集池内插入的电极测试,即产生一定的样品电位信号,由计算机记录。
- f.标准工作曲线的绘制:以分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极为工作电极、饱和甘汞电极为外参比电极,PXSJ-216L离子计测定电位值。将分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极插入分别盛有 30mLpH=3.7 乙醇/醋酸-醋酸锂缓冲溶液和不同浓度的三聚氰胺溶液的测量池中(三聚氰胺浓度分别为 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 5×10⁻⁵, 10⁻⁶mo1/L),电极在不同浓度的三聚氰胺溶液中产生不同的电位降,以电位差对浓度做出标准工作曲线(参见图 3)。
- g. 采用多重标准加入法将 10^{-3} mo 1/1 三聚氰胺/醋酸-醋酸锂标准溶液加入测量池中,即得一系列不同三聚氰胺浓度下(1.8×10^{-5} , 3.6×10^{-5} , 5.4×10^{-5} , 7.2×10^{-5} , 9.0×10^{-5} mo 1/L) 的电位值,以 $10^{E/S}$ 对标准溶液的加入浓度绘制曲线(其中 E 为不同加入浓度下的电位差,S 为标准工作曲线的斜率),根据曲线的截距可计算得原奶液中三聚氰胺的浓度(参见图 4)。

本发明电极测定对 Na^{\dagger} 离子选择性系数为 $-4.66(\pm 0.05)$ 。电极在 $1\times 10^{-2}-5\times 10^{-6}$ mo1/L 的三聚氰胺溶液中有较好的能斯特响应,斜率为 51mV,检出限可达 10^{-6} mo1/L。

实施例 2

取两种不同品牌的牛奶配置两个加标试样,浓度为 5×10⁻⁵mo1/1 和 2.5×10⁻⁵mo1/1,依照实施例 1 中步骤 d、f 和 g 测定电位差,参照标准工作曲线(参见图 3),采用多重标准物加入法计算出相应的浓度,测定的加标回收率 110%和 95%。

实施例 3

以某品牌婴儿配方奶粉(0-6个月婴儿适用)测定为例。

a. 分子印迹聚合物的制备: 取 352mg 三聚氰胺标准品和 948 μ1 预先真空蒸馏过的 α-甲基丙烯酸单体加入到 250ml 圆底烧瓶中,静置 5min。后将 6. 3ml 交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯以及 123mg 引发剂偶氮二异丁腈加入到上述混合物中,超声振荡 10min。待混合均匀后,加入 100ml 经一次蒸馏的氯仿溶剂于以上混合物中,继续超声振荡 10min。最后通氮气 10min,以除去反应溶液中存在的氧气,密封。将上述反应容器移至油浴中,于 60℃下反应 17h,得白色固体颗粒。

将上述白色固体颗粒于玛瑙研钵中粉碎研磨,过筛。取 500mg200-300 目颗粒采用甲醇/乙酸 (8: 2, v/v)混合溶剂连续清洗三次,每次 2h;采用 50ml 热超纯水连续洗涤多次,直至于紫外吸收光谱下λ=235nm 处无吸收峰为止。所得颗粒经进一步研磨,粒径 400-500 目的颗粒作为传感器材料。

- b. 电极的制备 PVC 颗粒、邻-硝基苯辛醚、分子印迹聚合物颗粒和四 (3,5-二(三氟甲基)苯基) 硼酸的混合物共 400mg,其中为 30.78wt% PVC 颗粒、61.56wt%邻-硝基苯辛醚,6.16wt%分子印迹聚合物颗粒和 1.5wt%四 (3,5-二(三氟甲基)苯基) 硼酸钠,移入到 3.5m1 四氢呋喃溶液中,超声、搅拌 4h 使之分散均匀,后在室温下自然挥发 12h,即得到分子印迹聚合物敏感膜,厚度约为 200 μ m。利用打孔器将敏感膜切割成 0.6cm 直径大小的均匀圆形切片,以四氢呋喃和 PVC 的混合液将敏感膜黏附到聚四氟乙烯管顶管。电极在使用前应以 10^{-4} mo1/1 三聚氰胺(醋酸-醋酸锂缓冲溶液,pH=3.7)活化 24h。
- c. 检测装置: 阴阳离子交换串联柱 3 的一端、第二流动注射装置 5 和样品收集池 6 分别与三通阀 7 相连接,阴阳离子交换串联柱 3 的另一端通过第一流动注射装置蠕动泵 2 连接有超微孔蛋白质滤器 1,第二流动注射装置 5 上连接有缓冲溶液池 4;在样品收集池 6 内插有分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 (参见图 1)。

电极: PXSJ-216L 离子计 9 分别与分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极工作电极 8 和外参比电极饱和甘汞电极 10 相连,分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极 8 内插有内参比电极 Ag/AgC1 电极 11, PXSJ-216L 离子计测定电位值(参见图 2)。同时 10⁻⁴mo1/L 的三聚氰胺内充液注入分子印迹聚合物修饰的离子选择性电极内,并且底部黏附分子印迹聚合物敏感膜,离子选择性电极为工作电极正极,饱和甘汞电极为参比电极为负极,正极与负极通过导线与 PXSJ-216L 离子计相连。

d. 取 135g 某品牌婴幼儿配方奶粉(0-6 个月适用)样品,加入 80m150℃ 超纯水,配成 100m1 奶液。将上述奶液加入 0.27mg 三聚氰胺,超声振荡 10min

混合均匀。加入 25ml 无水乙醇,后将上述溶液离心 5min (转速 15000rpm),取上层清液经由主蠕动泵以 0.2ml/min 的流速将上清液连续泵入阴阳离子交换树脂串联柱,离子交换柱出口与三通样品收集池相连。同时缓冲溶液池内的 20ml 醋酸-醋酸锂缓冲溶液 (pH=3.7) 由第二流动注射装置蠕动泵将缓冲液泵入通过三通相连的样品收集池中,使其与待测样品混合,并通过样品收集池内插入的电极测试,即产生一定的样品电位信号,由计算机记录。

e. 采用多重标准加入法将 10⁻³mo1/1 三聚氰胺/醋酸-醋酸锂标准溶液加入测量池中,即得一系列不同三聚氰胺浓度下(1.8×10⁻⁵, 3.6×10⁻⁵, 5.4×10⁻⁵, 7.2×10⁻⁵, 9.0×10⁻⁵mo1/L,由图 5 的横坐标可以读出)的电位值,以 10^{E/S}对标准溶液的加入浓度绘制曲线(其中 E 为不同加入浓度下的电位差,S 为实施例 1 中标准工作曲线的斜率),得到工作曲线,根据曲线的截距可计算得知奶粉中三聚氰胺的浓度(参见图 5)。

实施例 4

本发明应用于鸡蛋样品中的三聚氰胺含量的测定。

取某品牌鸡蛋样品配置两个加标试样,依照实施例 3 步骤 d、e,参照标准工作曲线(参见图 3),采用多重标准物加入法,列出应答对每次加入量的图线,然后将所得的直线外延至零应答,以浓度横轴上的负截距表示鸡蛋样品中三聚氰胺的浓度。

实施例 5

本发明应用于鸡饲料样品中的三聚氰胺含量的测定。

取某品牌鸡饲料样品以超纯水浸泡,滤去不溶物,以下层清液配置两个加标试样,依照实施例 3 步骤 d、e、参照标准工作曲线(参见图 3),采用多重标准物加入法,列出应答对每次加入量的图线,然后将所得的直线外延至零应答,以浓度横轴上的负截距表示鸡饲料样品中三聚氰胺的浓度。

实施例 6

本发明应用于饼干样品中的三聚氰胺含量的测定。

取某品牌饼干样品研磨,后以热的超纯水浸泡,滤去不溶物,以下层清液配置两个加标试样,依照实施例 3 步骤 d、e,参照标准工作曲线(参见图 3),采用多重标准物加入法,列出应答对每次加入量的图线,然后将所得的直线外延至零应答,以浓度横轴上的负截距表示饼干样品中三聚氰胺的浓度。

实施例 7

本发明将分子印迹聚合物膜修饰于电极表面,从而提高电极检测的灵敏度。铂电极 13 用作修饰电极,将分子印迹聚合物修饰于铂电极表面,并与 PXSJ-216L 离子计相连,Ag/AgC1 电极用作参比电极,PXSJ-216L 离子计通过计算机控制记录输出数据。

实施例 8

所述离子选择性电极头上黏附分子印迹基的聚合物敏感膜为:聚丁基丙烯酸酯、二-2-乙基已基癸二酸酯(DOS)、分子印迹聚合物颗粒和四(3,5-二(三氟甲基)苯基)硼酸钠,按重量份数比为 30: 60: 9: 1 混合,而后融

入到四氢呋喃溶液中,搅拌使之成为均匀溶液,在室温下过夜,即得到有弹性的分子印迹聚合物敏感膜。

实施例 9

所述离子选择性电极头上黏附分子印迹聚合物敏感膜为:橡胶、邻-硝基苯辛醚(o-NPOE)、分子印迹聚合物颗粒和四(3,5-二(三氟甲基)苯基)硼酸钠,按重量份数比为 30:70:9:1混合,而后融入到四氢呋喃溶液中,搅拌使之成为均匀溶液,室温下放置过夜,即得到有弹性的分子印迹聚合物敏感膜。

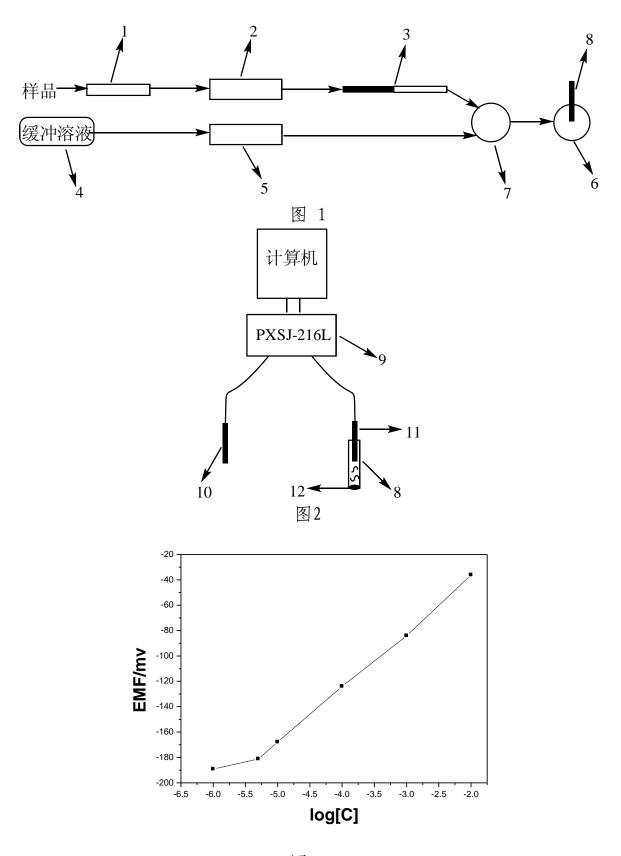
实施例 10

所述离子选择性电极头上黏附分子印迹聚合物敏感膜为:溶胶凝胶、癸二酸二辛酯、分子印迹聚合物颗粒和四(3,5-二(三氟甲基)苯基)硼酸钠,按重量份数比为 20: 40: 18: 1 混合,而后融入到四氢呋喃溶液中,搅拌使之成为均匀溶液,室温下放置过夜,即得到有弹性的分子印迹聚合物敏感膜。

实施例 11

所述离子选择性电极头上黏附分子印迹聚合物敏感膜为:聚丁基丙烯酸酯、癸二酸二丁酯、分子印迹聚合物颗粒和四(3,5-二(三氟甲基)苯基)硼酸钠,按重量份数比为 25: 50: 18: 2 混合,而后融入到四氢呋喃溶液中,搅拌使之成为均匀溶液,室温下放置过夜,即得到有弹性的分子印迹聚合物敏感膜。

说 明 书 附 图



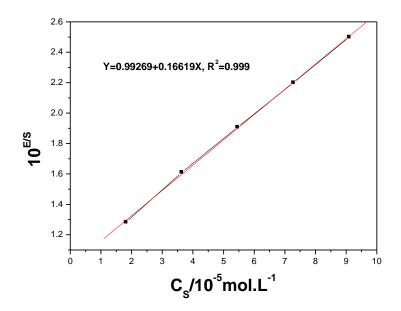


图 4

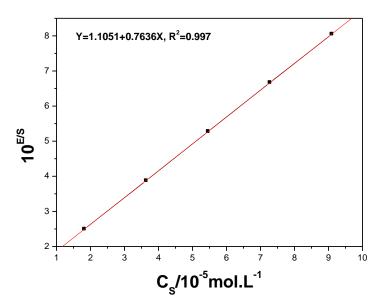


图 5