



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113866327 A

(43) 申请公布日 2021.12.31

(21) 申请号 202111141237.8

(22) 申请日 2016.12.12

(62) 分案原申请数据

201611135704.5 2016.12.12

(71) 申请人 邢玉伟

地址 100000 北京市昌平区回龙观新龙城
27号楼4单元202号

申请人 邢沛然

(72) 发明人 邢玉伟

(51) Int. Cl.

G01N 30/06 (2006.01)

G01N 30/74 (2006.01)

权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54) 发明名称

LHJ增溶剂在难溶食品添加剂定量测定中的应用

(57) 摘要

LHJ增溶剂由丁二醇、吐温、苯扎氯铵组成；主要用于卫生理化检验领域；解决原国标《食品卫生检验方法.理化部分》，难溶解食品合成添加剂定量测定回收率很低的难题，不用LHJ加标回收率30%-50%；用上LHJ增溶剂加标回收率90%-108%，符合仪器分析要求。技术方案：将难溶解食品粉碎，放入水或流动相中，加入一定量LHJ，LHJ将大有机化合物酶解-增溶-剥离，使添加剂暴露到水溶液中，再离心-过滤-在高效液相色谱或气相色谱定量测定。LHJ将粘附色谱柱憎水物剥离溶解，缩短冲洗时间，可作色谱柱洗脱剂。

1.LHJ在难溶食品防腐剂(苯甲酸、山梨酸)、甜味剂(糖精钠)定量测定应用,其特征在于:LHJ由酶-辅酶、吐温、丁二醇、苯扎氯铵组成;主要功能酶-辅酶将动-植物胶,蛋白质、脂肪、多糖、纤维素等大分子酶解;非-阳离子表面活性剂增溶-剥离,添加剂彻底溶解到水相。没用LHJ前,难溶食品(果冻、陈皮、兔肉、冰激凌、酱油、蜜饯)粉碎碎,放水中振摇,溶液呈现胶块或悬浮颗粒,固相将苯甲酸、山梨酸、糖精钠吸附裹裹着,定量测定回收率(30%-50%);用上LHJ,难溶食品动-植物胶、脂肪、多糖、纤维素等大分子彻底酶解,非-阳离子表面活性剂增溶-剥离,使悬浮颗粒最小化,添加剂充分暴露溶解到水相;分析步骤:难溶食品粉碎,称取1.0g或2.5g样品,放入10.0ml或25.0ml比色管中,加5.0ml或10.0ml流动相,振摇,加LHJ 2.0ml或5.0ml充分振摇,放置30min,加入200g/L乙酸锌和100g/L亚铁氰化钾0.5mL或2.5mL,摇匀,用流动相定容到10.0mL或25.0mL刻度,摇匀,离心,取上清液过0.45 μ m微孔滤膜,取10.0 μ L样品溶液和标准溶液高效液相色谱定量测定,加标回收率在90%-108%;符合仪器分析要求.LHJ适应于其它添加剂测定作增溶剂,这是本专利保护内容。

2.LHJ在难溶食品甜味剂(甜蜜素)定量测定的应用:根据权利要求1所诉,用LHJ将难溶食品酶解-增溶-剥离,适用多种添加剂定量测定,如果冻中甜蜜素测定,没用LHJ前回收率很低,达不到仪器分析要求,用上LHJ回收率大大提高,分析步骤:将果冻捣碎,放入试管中,加少量水溶解,加LHJ振摇,定容,在酸性介质中甜蜜素与亚硝酸反应生成环己醇亚硝酸酯,用正己烷提取,气相色谱分离,保留时间定性,外标法定量;结果该方法线性关系良好,相关系数 $r=0.9996$,检出限0.001g/kg,回收率90%-102%,用LHJ处理样品甜蜜素测定回收率提高2-3倍;各项技术指标符合仪器分析要求;这是本专利保护内容。

3.LHJ在难溶食品增白剂(过氧化苯甲酰)定量测定应用:根据权利要求1所诉,LHJ对难溶食品分解-增溶-剥离,LHJ适应难溶食品多种添加剂定量测定;分析步骤与(1)相同,加LHJ放置30min,加碘化钾或硫代硫酸钠1.0ml,乙酸锌和亚铁氰化钾加入量0.5mL,(国标量1/2依据 $W=Kq_1q_2 \cdot d^n/r^{n/2}$ 计算),碘化钾还原-高效液相色谱法,虽然样品处理、色谱条件苛刻,但在严格控制试剂加入量和色谱条件,除色,用上LHJ,定量测定回收率高于90.6%。硫代硫酸钠还原法,没用LHJ前,回收率50%,用上LHJ,加标回收率90-93%,技术指标符合仪器分析要求,这是本专利保护内容。

4.LHJ在难溶食品合成色素定量测定应用:根据权利1所诉,LHJ将难溶食品酶解-增溶-剥离,LHJ适应难溶食品多种添加剂定量测定;日常工作,经常进行难溶解食品(糕点、青梅、山楂制品、红肠肠衣,冰淇淋、调味酱、糖果、雪糕、饼干)中合成色素(苋菜红、胭脂红、赤鲜红、新红、柠檬黄、日落黄、亮蓝、靛蓝)定量测定,用上LHJ定量测定回收大大提高。

5.LHJ在洗脱高效液相色谱柱的应用:根据权利要求1所诉,LHJ酶解-增溶-剥离性能;色素很容易粘附柱子上,一次色素测定,当天柱子没冲洗干净,第二天冲洗,粘附柱子上的色素,用水-甲醇怎么也洗不掉;后来用LHJ剃度洗脱3次,柱子冲洗好了,LHJ可作高效液相色谱柱洗脱剂。

LHJ增溶剂在难溶食品添加剂定量测定中的应用

[0001] 技术领域:本发明涉及难溶解食品卫生理化检验领域;确切说是LHJ将难溶解食品大有机分子酶解成小分子,非-阳离子表面活性剂将胶体或悬浮体颗粒分散剥离,使添加剂充分溶解到水相,解决原国标方法,难溶解食品添加剂定量测定回收率很低的难题。

[0002] 背景技术:本人从事高效液相色谱工作多年,发现《中华人民共和国国家标准食品卫生检验方法(一)P₁₋₇₀₉,(二)P₁₋₅₉₆》仅适应液体样品,如汽水、饮料、配制酒,对固体、半固体食品,如果冻、陈皮、果酱、蜜饯、糕点……等食品中防腐剂、甜味剂、色素、增白剂等,定量测定回收率30%-50%,无法准确测定添加剂真实含量,更不能严格控制超标食品流入市场,对人民群众健康非常不利,特别致癌物,为此进行长期研究工作;用水或流动相难溶解食品,有许多胶体或悬浮体,特别是内聚能,将添加剂牢牢吸附包裹着,多年来一直寻找一种试剂,剥离分散悬浮体粒度,把添加剂从悬浮体中拽出来,充分暴露溶解到水相;后来儿子吃果冻时,用芦荟汁滴在果冻上,结果,果冻溶解了一个坑,这下提醒了我,为此开始长达数年LHJ配制研究工作,LHJ研究成功后,并用于难溶解食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠、过氧化苯甲酰、色素定量测定中;《LHJ增溶剂用于果冻中苯甲酸和山梨酸定量测定的研究》,论文刊登《中国卫生检验杂志》2004.12.14卷6期P₇₁₃₋₇₁₄,获市科技进步二等奖。《深色、难溶食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠LHJ增溶高效液相色谱测定法》刊登在《职业与健康》2009年25卷23期。《面粉、油脂中过氧化苯甲酰-LHJ增溶高效液相色谱测定法改用》刊登在《现代预防医学》2009年36卷24期;《面粉中过氧化苯甲酰硫代硫酸钠还原LHJ增溶高效液相色谱测定法》刊登在《职业与健康》2009年25卷24期,几种方法加标回收率90%-108%,符合仪器分析要求。《LHJ增溶剂对难溶食品中添加剂定量测定的研究-高效液相色谱法》,获市科学技术进步二等奖(2013年);本科室同事将LHJ用于气相色谱甜蜜素定量测定;其它添加剂定量测定方法正在研究中。

发明内容:

[0003] 分析步骤1:将难溶食品粉碎,称取1.0g或2.5g样品,放入10.0ml或25.0ml比色管中,加5.0ml或10.0ml流动相,振摇,加LHJ 2.0ml或5.0ml充分振摇,放置30min,加入200g/L乙酸锌和100g/L亚铁氰化钾0.5mL或2.5mL,充分振摇,用水定容到10.0mL或25.0mL刻度,摇匀,离心,取上清液过0.45μm微孔滤膜,取10.0μL样品溶液和标准溶液注入高效液相色谱定量测定。

[0004] 高效液相色谱采用反向柱分离,紫外或二极管鉴定器定量测定添加剂含量。

[0005] 实施例1、LHJ增溶剂在难溶食品中防腐剂(苯甲酸、山梨酸)定量测定的应用:(附图说明:附图1是用与不用LHJ对果冻中苯甲酸、山梨酸定量测定结果对比)食品防腐剂28种;含蛋白、脂肪、碳水化合物、植物胶、动物胶、增稠剂等难溶食品有果冻、陈皮、酱类、蜜饯、软糖、果酱、肉、蛋、鱼、禽制品、胶原蛋白糖衣、果酱、糕点、面包、蛋糕、月饼等,进行苯甲酸、山梨酸定量测定;没用LHJ前,果冻加标回收率只有30%,当用上LHJ增溶剂胶体完全消失,苯甲酸、山梨酸完全溶解在水相中,加标回收率苯甲酸90.7%、山梨酸96.7%,《LHJ增溶剂用于果冻中苯甲酸和山梨酸定量测定的研究》刊登在《中国卫生检验杂志》2004、12、14、6

期P₇₁₃₋₇₁₄,获市科进步二等奖,2005年。

[0006] 实施例2-1、LHJ在难溶食品甜味剂(糖精钠)定量测定应用:(附图2)

[0007] 甜味剂有十几种;将样品捣碎加水或流动相,实验过程按照分析步骤1进行;用上LHJ,通过酶解-增溶-剥离,溶解度提高,《深色、难溶食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠LHJ增溶高效液相色谱测定法》刊登在《职业与健康》2009年25卷23期。酱油、果冻、冷冻饮品加标回收率:苯甲酸90%-108%、山梨酸90%-100%、糖精钠90%,各项技术指标符合仪器分析要求;说明该方法准确可行。

[0008] 实施例2-2、LHJ增溶剂在难溶解食品中甜味剂(甜蜜素)定量测定的应用:

[0009] 将果冻样品捣碎,放入试管中,加少量水溶解,加LHJ充分振摇溶解定容,在酸性介质中甜蜜素与亚硝酸反应生成环己醇亚硝酸酯,用正己烷提取,气相色谱分离,保留时间定性,外标法定量;结果该方法线性关系良好,相关系数 $r=0.9996$,检出限 0.001g/kg ,回收率90%-102%;结论:该方法灵敏度、精密度好,回收率高;论文《LHJ增溶剂对果冻中甜蜜素定量测定的应用》刊登在《医学动物防制》2015年08期。

[0010] 实施例3、LHJ增溶剂在增白剂(过氧化苯甲酰)定量测定中的应用:

[0011] (附图说明:附图3、4)分析步骤与1相同,加LHJ放置30min,加碘化钾或硫代硫酸钠1.0ml,加乙酸锌和亚铁氰化钾加0.5mL,(国标量1/2依据 $W=Kq_1q_2 \cdot d^n/r^{n^2}$ 计算),碘化钾还原-高效液相色谱法,虽然样品处理、色谱条件苛刻,但在严格控制试剂加入量和色谱条件,除色,用上LHJ,定量测定回收率高于90.6%。硫代硫酸钠还原法,没用LHJ前,回收率50%,用上LHJ,加标回收率90-93%,技术指标符合仪器分析要求。

[0012] 加入量大溶剂峰与苯甲酸峰分不开,加入量少过氧化苯甲酰分不开;后来采用硫代硫酸钠还原法,没用LHJ回收率50%,面粉经LHJ酶解-增溶-剥离,定量测定回收率90%-93%,各技术指标均符合仪器分析要求。

[0013] 实施例4、LHJ增溶剂在难溶食品着色剂定量测定的应用:

[0014] 在实验室,经常对难溶解食品(糖果、糕点、青梅、山楂制品、染色樱桃罐头、冰激凌……)等,进行苋菜红、胭脂红、赤鲜红、新红、柠檬黄、日落黄、亮蓝、靛蓝定量测定,色素测定操作非常复杂,样品处理没用LHJ,加标回收率比防腐剂、甜味剂还低,用上LHJ增溶剂,回收率90%-108%,技术指标符合仪器分析要求,GB2760-2013着色剂有几十种,合成色素是其中几种。

[0015] 实施例5、LHJ增溶剂在洗脱高效液相色谱柱应用:

[0016] 色素测定对高效液相色谱柱损害严重,一次色素测定,当天没有把柱子冲洗干净,第二天冲洗,色素粘附柱子上,用水、甲醇怎么也洗不净,后来用LHJ增溶剂很快冲下许多物质,剃度洗脱3次柱子冲洗好了:高效液相色谱测定关键是柱子冲洗,许多有机物-无机物黏附在柱子上,用流动相-甲醇需长时间冲洗,用LHJ增溶剂很快冲洗干净,LHJ可作高效液相色谱柱洗脱剂。

实例1表 用与不用LHJ溶解 果冻苯甲酸、山梨酸定量测定结果及回收率

样品 (g)	标 g/kg	蛋白质沉淀剂 mL	LHJ/mL	定容 mL	山梨酸 g/kg	回收率%	苯甲酸 g/kg	回收率%
1.0	0.00	0.50	2.0	10.0	0.010		0.00	
1.0	0.00	0.50	2.0	10.0	0.25		0.020	
1.0	0.00	0.50	2.0	10.0	0.27		0.030	
1.0	0.00	0.50	2.0	10.0	0.28		0.030	
1.0	0.50	0.50	2.0	10.0	0.75	96.7	0.48	90.7

图1

实例2表 用与不用LHJ 果冻、冷冻食品苯甲酸、山梨酸、糖精钠定量测定结果及回收率

样品	LHJ (mL)	标加 g/kg	苯甲酸测 g/kg	本底值	回收率%	山梨酸测 g/kg	本底值	回收率%	糖精钠测 g/kg	本底值	回收率%
酱油	5.00	0.50	1.08	0.54	108	0.45	0.00	90	-	-	-
果冻	5.00	0.50	0.47	0.020	90	0.75	0.27	96	-	-	-
冰激凌	5.00	0.030	0.040	0.010	100	0.030	0.00	100	0.097	0.070	90
果冻	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	-	30	-	-	-
果冻	2.00	0.00	0.017	0.00	90.7	0.256	-	96	-	-	-
冰激凌	0.00	0.00	0.010	-	50	-	-	-	0.026	0.00	46.8
冰激凌	5.00	0.00	0.020	-	100	-	-	-	0.050	0.00	90
陈皮	0.00	0.00	0.020	0.00	-	-	-	-	-	-	-
陈皮	5.00	0.00	0.11	0.00	-	-	-	-	-	-	-

冷冻饮品-冰激凌

图2

实例3表 硫代硫酸钠还原, 用水和LHJ溶解面粉过氧化苯甲酰定量测定结果

编号	样品 (g)	加标 (g/kg)	LHJ (mL)	硫代硫酸钠 (mL)	乙醇 (mL)	测量值 (g/kg)	回收率 (%)
样+标1	1.00	0.50	0.00	1.00	2.00	0.25	50.0
样+标2	1.00	0.50	5.00	1.00	2.00	0.45	90.0
样+标3	1.00	0.50	5.00	1.00	2.00	0.46	92.0
样+标4	1.00	1.00	5.00	1.00	2.00	0.93	93.0
样5	1.00	0.00	0.00	1.00	2.00	0.00	-

图3

实例4表 碘化钾还原-新法方法, 用与不用LHJ增溶剂, 面粉、油醋过氧化苯甲酰实验结果

样 (g)	流速比	LHJ/mL	加标 mg/ml	g/kg	碘化钾 g	乙醇 ml	测量均值 mg/ml	g/kg	回收率%
2.5	97.3	5.00	0.05		0.125	5.0	0.0453		90.6
2.5	97.3	5.00	0.01		0.125	5.0	0.010		100
2.50	95.5	0.00		0.040	1.25	10.0		0.080	200
2.50	97.3	5.00		0.040	0.125	5.00		0.040	100

图4