



(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 $\mu$ m微孔滤膜,取10.0 $\mu$ 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)P<sub>1-709</sub>,(二)P<sub>1-596</sub>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,将添加剂牢牢吸附裹裹着,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P<sub>713-714</sub>,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10.0uL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P<sub>713-714</sub>,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 $0.001\text{g/kg}$ ,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	LHJmL	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、油醇过氧化苯甲酰实验结果**

样 (g)	流速比	LHJmL	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