

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 9 月 17 日 (17.09.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/181780 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 30/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2019/113576
- (22) 国际申请日: 2019 年 10 月 28 日 (28.10.2019)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910194098.1 2019 年 3 月 14 日 (14.03.2019) CN
- (71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/
CN]; 中国江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道
1800 号张勇, Jiangsu 214000 (CN)。
- (72) 发明人: 刘元法(LIU, Yuanfa); 中国江苏省无锡市
滨湖区蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000
(CN)。 宋军鸽(SONG, Junge); 中国江苏省无锡市
滨湖区蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000

(CN)。 李进伟(LI, Jinwei); 中国江苏省无锡市滨
湖区蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000 (CN)。
曹晨(CAO, Chen); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡
湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000 (CN)。 徐勇
将(XU, Yongjiang); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡
湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000 (CN)。 翟颖
红(ZHAI, Yinghong); 中国江苏省无锡市滨湖区蠡
湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214000 (CN)。

(74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代
理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL
PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省
哈尔滨市松北区科技一街 99 号 18 栋 E 区 501
张勇, Heilongjiang 150028 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,

(54) Title: METHOD FOR RAPIDLY AND ACCURATELY ANALYZING CONTENT OF POLYPHENOL IN RAPESEED OIL

(54) 发明名称: 一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法

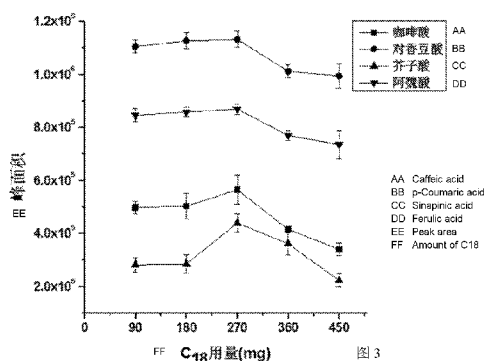


图 3

(57) Abstract: A method for rapidly and accurately analyzing the content of polyphenol in rapeseed oil. A method for separation relates to using acetonitrile-water as an extraction agent to extract polyphenol in rapeseed oil, performing purification by virtue of a C₁₈ adsorbent, and then performing separation and purification. Compared with conventional liquid-liquid extraction and solid-phase extraction, an average recovery rate of polyphenol in rapeseed oil according to the method ranges from 81.31% to 102.95%, RSDs ranges from 0.86% to 8.03%, and the accuracy and precision are higher. According to the present method, less organic reagent is used so that the environmental pollution is small, and matrix interference is reduced by optimizing an adsorbent so that the purification efficiency is improved. The present method is simple in operation, low in cost, less in matrix interference, accurate in result, and suitable for qualitative and quantitative measurement of polyphenol in rapeseed oil.

(57) 摘要: 一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法, 分离方法利用乙腈-水作为萃取剂来提取菜籽油中多酚, 并配合 C₁₈ 吸附剂净化, 然后进行分离提纯。与传统液液萃取和固相萃取相比, 该方法对菜籽油中多酚的平均回收率为 81.31%~102.95%, RSDs 为 0.86%~8.03%, 准确度和精密度更高。本方法不仅有机试剂用量少, 对环境污染小, 而且通过对吸附剂的优化, 降低了基质干扰, 提高了净化效率, 本方法操作简便, 成本低, 基质干扰少, 结果准确, 适合菜籽油中多酚的定性和定量测定。

GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法

技术领域

[0001] 本发明属于天然化合物分析领域，具体涉及一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法。

背景技术

[0002] 多酚广泛存在于植物体中，是植物体内一种重要的次生代谢产物，其分子结构中含有若干个酚羟基。研究证实，多酚具有抗肿瘤、降血糖、抑菌、抗氧化、清除自由基等生理功能和生物活性，具有广阔的开发前景。菜籽中的多酚含量远高于其他油料作物，但是在制油过程中，大部分多酚都残留在菜籽饼粕中，仅有少部分会转移至菜籽油中。由于多酚可改善菜籽油的氧化稳定性和营养品质，若能精确的分析菜籽油中多酚的组成及含量，对菜籽油的加工具有重要的意义。

[0003] 目前，植物油中多酚的提取普遍采用液液萃取和固相萃取，但这两种方法存在操作繁琐，有机溶剂消耗大，基质共提物含量高等弊端。因此，寻求一种简便、环境友好且能够显著降低基质共提物含量的方法是非常必要的。

[0004] 发明内容

[0005] 本发明基于QuEChERS分离技术提供了一种操作简便、成本低，而且基质干扰少、结果准确的菜籽油中多酚新的分析方法，用以解决现有检测方式步骤繁琐，有机溶剂消耗大，基质共提物含量高的问题。

[0006] QuEChERS萃取分离技术是近年来国际上最新发展起来的一种快速样品前处理技术，具有回收率高、精确度和准确度高、溶剂使用量少、操作简便、安全可靠等特点。然而在QuEChERS萃取分离技术中，由于不同基质及目标物性质的千差万别，所用的萃取条件和净化条件对最终分离结果影响较大。目前，QuEChERS萃取分离技术多用于农药、兽药、真菌毒素、多环芳烃等化合物的残留分析，应用的基质大多为蔬菜、水果、土壤等，比如QuEChERS萃取分离常用于水果中农残检测，所用萃取剂基本为乙腈，其他溶剂与其存在明显的效果差异，且

所用吸附剂也基本选用PSA。目前还未有将QuEChERS萃取分离技术用于植物油中多酚提取的报道，因此，如何将QuEChERS萃取分离技术应用于植物中多酚的提取是本发明所要克服的问题，也是本发明的重要发明目的之一。

[0007] 本发明的第一个目的是提供一种菜籽油中多酚的提取方法，所述方法包括：

[0008] (1) 乙腈与水的混合溶液作为萃取剂对菜籽油进行萃取，分离萃取液，得到提取液；

[0009] (2) 向步骤(1)所得提取液中加入吸附剂 C_{18} 25~35 mg/mL，分离除去固体成分，即得多酚溶液。

[0010] 本发明的一种实施方式中，所述萃取剂中乙腈与水的体积比为(4-8) : 1。

[0011] 本发明的一种实施方式中，所述步骤(1)中菜籽油与萃取剂的质量体积比为0.25~0.35g/mL。

[0012] 本发明的一种实施方式中，所述步骤(1)还包括加入无水 $MgSO_4$ 和NaCl，与萃取剂配合作用。

[0013] 本发明的一种实施方式中，所述无水 $MgSO_4$ 和NaCl的质量比为2:1~6:1。

[0014] 本发明的一种实施方式中，所述步骤(1)还包括将分离后的液体冷冻处理，进而得到提取液。

[0015] 本发明的一种实施方式中，所述冷冻处理的条件为：温度-15℃~-20℃，时间1.5~2.5 h。

[0016] 本发明的一种实施方式中，所述步骤(2)还包括加入无水 $MgSO_4$ 与吸附剂配合使用，进一步除去水分和提取液中的脂肪等杂质，得到多酚溶液。

[0017] 本发明的一种实施方式中，所述分离是将萃取液离心分离，转速3000~5000 rpm。

[0018] 本发明的第二个目的是提供一种植物油中多酚的检测方法，所述方法是预先将植物油作前处理得到多酚溶液，然后进行检测；所述前处理方法为上述方法。

[0019] 本发明的一种实施方式中，所述方法还包括将多酚溶液进行浓缩，然后用溶剂溶解得到检测样液，即可用于检测。

[0020] 本发明的一种实施方式中，所述溶剂包括甲醇。

[0021] 本发明的第三个目的是提供一种植物油中多酚的液相色谱检测方法，所述方法

是预先将植物油作前处理得到多酚的液体样品，然后进行液相色谱检测；所述前处理方法为上述方法。

[0022] 本发明的一种实施方式中，所述液相色谱的色谱柱为Thermo Hypersil GOLD (100mm×2.1mm, 1.9 μ m)，柱温箱温度为30-40℃。

[0023] 本发明的一种实施方式中，所述液相色谱的流动相A为0.1%乙酸水溶液；流动相B为乙腈溶液，流速为0.2-0.5mL/min。

[0024] 本发明有益效果：

[0025] 本发明提供了一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法，用乙腈-水提取菜籽油中多酚，利用C₁₈吸附剂净化，进行分离纯化。与传统液液萃取和固相萃取相比，该方法对菜籽油中多酚的平均回收率为81.31%~102.95%，RSDs为0.86%~8.03%，准确度和精密度更高。本发明方法不仅有机试剂用量少，对环境污染小，而且通过对吸附剂的优化，降低了基质干扰，提高了净化效率。本发明方法不仅操作简便、成本低，而且基质干扰少、结果准确，适合菜籽油中多酚的定性和定量测定。

发明概述

对附图的简要说明

附图说明

[0026] 图1为以实施例1作为参照，考察水的用量对多酚提取效果的影响图；

[0027] 图2为以实施例1作为参照，考察冷冻时间对基质共提物含量的影响图；

[0028] 图3为以实施例1作为参照，考察C₁₈用量对多酚提取效果的影响图。

[0029] 具体实施方式

[0030] 以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。

[0031] 实施例1：

[0032] 分离处理：准确称取6.00 g菜籽油于50 mL离心管中，加入3 mL水和18 mL乙腈，振荡5 min；加入7.2 g无水MgSO₄和1.8 g NaCl，振荡2 min，然后于4000 rpm条件下，离心5min；移取上清液至离心管中，-20℃冷冻2 h；移取9 mL上清液至15 mL离心管中，加入270 mg C₁₈和1.8 g无水MgSO₄，振荡2 min，然后于4000 rpm条件下，离心5 min；得到上清液，即为多酚溶液。

[0033] 实施例2:

[0034] 采用的液相色谱条件为: 色谱柱: Thermo Hypersil GOLD (100mm×2.1mm, 1.9μm); 柱温箱温度: 35°C; 进样量: 2μL; 流速为0.30mL/min; 流动相A: 0.1%乙酸水溶液; 流动相B: 乙腈溶液。

[0035] (1) 标准溶液的制备: 使用色谱级甲醇制备浓度为200μg/mL的多酚混合标准溶液, 然后在使用前在-20°C下储存。通过用甲醇稀释储备溶液来制备工作溶液。

[0036] (2) 用甲醇稀释标准溶液成不同浓度的工作溶液后分别进行测定: 每个浓度平行测定3次, 得出多酚的线性方程和相关系数。以3倍信噪比计算得出方法检出限, 10倍信噪比计算得出方法定量限, 结果见表1。

[0037] 表1线性范围、检出限和定量限的测定

[0038] [表1]

化合物	回归方程	相关系数 R2	线性范围 (μg/mL)	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
原儿茶酸	$Y=3.0872x+0.0976$	0.9961	0.04-10	0.010	0.033
对羟基苯甲酸	$Y=5.0126x+1.2662$	0.9955	0.04-10	0.010	0.033
咖啡酸	$Y=0.1727x-0.0290$	0.9977	0.30-10	0.080	0.267
香草酸	$Y=0.6213x+0.3024$	0.9964	0.03-10	0.008	0.027
丁香酸	$Y=1.0651x+0.2823$	0.9935	0.03-10	0.008	0.027
对香豆酸	$Y=3.0005x+0.9064$	0.9925	0.02-10	0.006	0.020
芥子酸	$Y=0.2064x+0.0778$	0.9902	0.03-10	0.008	0.027
阿魏酸	$Y=2.7085x+1.2602$	0.9945	0.02-10	0.004	0.013
肉桂酸	$Y=4.7007x+2.4276$	0.9924	0.01-10	0.002	0.007
芥子碱	$Y=9.9452x+6.1696$	0.9923	0.02-10	0.004	0.013

[0039] (3) 准确移取4.5 mL上清液 (实施例1所得多酚溶液) 至氮吹管中, 在氮吹仪

中缓缓吹干，加入甲醇溶液1.5 mL，用0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶中，进行HPLC-MS测定。

[0040] (4) 加标回收率：对实际样品加标10 $\mu\text{g/g}$ 进行测定，重复3次，计算平均回收率与相对标准偏差(RSD)，结果见表2。

[0041] 表2加标回收率测定

[0042] [表2]

化合物	加标回收率
原儿茶酸	86.17a $\pm$ 8.03b
对羟基苯甲酸	99.23 $\pm$ 4.83
咖啡酸	91.06 $\pm$ 4.13
香草酸	99.53 $\pm$ 3.33
丁香酸	100.34 $\pm$ 0.86
对香豆酸	99.71 $\pm$ 1.48
芥子酸	101.90 $\pm$ 3.24
阿魏酸	102.95 $\pm$ 1.74
肉桂酸	81.31 $\pm$ 2.95
芥子碱	97.96 $\pm$ 7.90

[0043] ^a平均回收率，%；^b相对标准偏差（RSD，%）。

[0044] 实施例3：

[0045] 参照实施例1，将萃取剂分别替换为2：1、4：1、8：1乙腈/水，其他条件不变，得到的样液经液相色谱检测，计算平均峰面积与RSD，所得结果见表3。

[0046] 表3 实施例3制得样品的检测结果

[0047]

[表3]

乙腈与水体 积比	咖啡酸/峰面积(% RSD)	p-香豆酸/峰面 积(% RSD)	芥子酸/峰面积(% RSD)	阿魏酸/峰面积 (% RSD)
2:1	226120(10.88)	733015(2.21)	333725(6.38)	533467(5.35)
4:1	379940(11.52)	1021980(6.71)	404765(10.75)	767575(9.67)
6:1	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)
8:1	531352(12.44)	1128797(4.33)	426528(10.09)	866902(8.02)

[0048] 实施例4:

[0049] 参照实施例1, 将萃取剂的用量分别替换为4.5mL水和27mL乙腈, 2.25mL水和13.5mL乙腈, 其他条件不变, 得到的样液经液相色谱检测, 计算平均峰面积与RSD, 所得结果见表4。

[0050] 表4 实施例4制得样品的检测结果

[0051] [表4]

萃取剂	咖啡酸/峰面积(% RSD)	p-香豆酸/峰面 积(% RSD)	芥子酸/峰面 积(% RSD)	阿魏酸/峰面 积(% RSD)
2.25mL水和13.5mL乙腈	288232(12.03)	966108(4.70)	344566(9.57)	716155(3.28)
3mL水和18mL乙腈	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)
4.5mL水和27mL乙腈	462570(10.47)	1110167(2.55)	422409(4.10)	821657(5.87)

[0052] 实施例5:

[0053] 参照实施例1, 将吸附剂的用量分别替换为90mg、180mg、360mg、450mg, 其他条件不变, 得到的样液经液相色谱检测, 计算平均峰面积与RSD, 所得结果见表5。

[0054] 表5实施例5制得样品的检测结果

[0055] [表5]

C18用量/mg	咖啡酸/峰面积(% RSD)	p-香豆酸/峰面积(% RSD)	芥子酸/峰面积(% RSD)	阿魏酸/峰面积(% RSD)
90	497706(4.82)	1104624(2.35)	281526(10.04)	845011(2.86)
180	502562(9.83)	1126695(2.69)	284957(11.98)	857426(2.05)
270	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)
360	415247(2.43)	1011740(2.39)	360893(11.75)	769054(2.45)
450	339775(6.87)	993345(4.56)	222556(11.03)	734897(7.35)

[0056] 对照例1:

[0057] 样品处理和分析中, 采用液液萃取技术: 准确称取2.50 g菜籽油, 溶于3 mL正己烷中, 振荡1 min; 分别用3 mL体积分数80%甲醇溶液提取3次, 每次振荡5 min, 于4000 rpm条件下离心5min; 合并甲醇提取液, 将提取液在氮吹仪中缓缓吹干, 加入甲醇溶液2.5 mL, 用0.22 μ m滤膜过滤至样品瓶中, 进行HPLC-MS测定; 其它同实施例2; 分析结果见表6。

[0058] 对照例2

[0059] 样品处理和分析中, 采用固相萃取技术: 将二醇基固相萃取柱置于固相萃取装置中, 分别用5 mL甲醇和5 mL正己烷活化SPE柱; 准确称取1.50 g菜籽油, 溶于5mL正己烷中, 振荡1 min; 将样品装柱, 先后用5mL正己烷和5mL正己烷:乙酸乙酯 (90:10, v/v) 过柱清洗, 最后用5 mL甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液, 在氮吹仪中缓缓吹干, 加入甲醇溶液1.5 mL, 用0.22 μ m滤膜过滤至样品瓶中, 进行HPLC-MS测定; 其它同实施例2; 分析结果见表6。

[0060] 表6 对照例1、2制得样品的检测结果情况

[0061]

[表6]

化合物	对照例1	对照例2	实施例1
原儿茶酸	82.53±5.26	65.85±3.05	86.17±8.03
对羟基苯甲酸	76.90±7.82	77.95±10.13	99.23±4.83
咖啡酸	81.28±8.81	56.98±9.23	91.06±4.13
香草酸	62.16±4.05	52.32±8.51	99.53±3.33
丁香酸	101.11±7.62	71.54±4.81	100.34±0.86
对香豆酸	77.88±9.03	61.31±5.74	99.71±1.48
芥子酸	75.39±7.54	83.79±5.58	101.90±3.24
阿魏酸	66.04±9.65	65.29±7.73	102.95±1.74
肉桂酸	81.41±5.44	67.73±3.57	81.31±2.95
芥子碱	105.80±4.80	67.55±8.06	97.96±7.90

[0062] 由表6结果可知，所开发的方法对菜籽油中多酚的平均回收率为81.31%~102.95%，RSDs为0.86%~8.03%。与传统液液萃取和固相萃取相比，本专利开发的方法准确度和精密度更高，提取效果更好。而且，相比于液液萃取和固相萃取，该方法不仅操作简便、成本低，而且通过采用C₁₈吸附剂净化，降低了基质干扰，结果更准确。

[0063] 对照例3:

[0064] 参照实施例1，将萃取剂替换为纯乙腈，其他条件不变，得到的样液经液相色谱检测，计算平均峰面积与RSD，所得结果见表7。

[0065] 表7对照例3所得样品的检测结果

[0066]

[表7]

萃取剂	咖啡酸/峰面积(% RSD)	p-香豆酸/峰面积(% RSD)	芥子酸/峰面积(% RSD)	阿魏酸/峰面积 (% RSD)
乙腈	154868(9.34)	674863(4.80)	227807(9.01)	519482(6.05)
乙腈和水	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)

[0067] 对照例4:

[0068] 参照实施例1, 将吸附剂分别替换为PSA或者GCB, 其他条件不变, 得到的样液经液相色谱检测, 所得结果见表8。

[0069] 表8对照例4所得样品的检测结果

[0070] [表8]

吸附剂	咖啡酸/峰面积(% RSD)	p-香豆酸/峰面积(% RSD)	芥子酸/峰面积(% RSD)	阿魏酸/峰面积(% RSD)
PSA	138529(8.78)	478271(3.70)	378770(4.04)	606039(3.64)
GCB	182310(3.86)	563629 (4.53)	412811(6.74)	641664 (4.81)
C18	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)

[0071] 虽然本发明已以较佳实施例公开如上, 但其并非用以限定本发明, 任何熟悉此技术的人, 在不脱离本发明的精神和范围内, 都可做各种的改动与修饰, 因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

权利要求书

- [权利要求 1] 一种菜籽油中多酚的提取方法，其特征在于，所述方法包括：
- （1）乙腈与水的混合溶液作为萃取剂对菜籽油进行萃取，分离萃取液，得到提取液；所述萃取剂中乙腈与水的体积比为（5-8）：1；菜籽油与萃取剂的质量体积比为0.15~0.35g/mL；
- （2）向步骤（1）所得提取液中加入吸附剂C₁₈20~35mg/mL，固液分离后即得多酚溶液。
- [权利要求 2] 一种菜籽油中多酚的提取方法，其特征在于，所述方法包括：
- （1）乙腈与水的混合溶液作为萃取剂对菜籽油进行萃取，分离萃取液，得到提取液；
- （2）向步骤（1）所得提取液中加入吸附剂C₁₈20~35mg/mL，固液分离后即得多酚溶液。
- [权利要求 3] 根据权利要求2所述的方法，其特征在于，所述萃取剂中乙腈与水的体积比为（5-8）：1。
- [权利要求 4] 根据权利要求2所述的方法，其特征在于，所述步骤（1）中菜籽油与萃取剂的质量体积比为0.15~0.35g/mL。
- [权利要求 5] 根据权利要求1~4任一所述的方法，其特征在于，所述步骤（1）还包括加入无水MgSO₄和NaCl，与萃取剂配合作用。
- [权利要求 6] 根据权利要求5所述的方法，其特征在于，所述无水MgSO₄和NaCl的质量比为2:1~6:1。
- [权利要求 7] 根据权利要求1~4任一所述的方法，其特征在于，所述步骤（1）还包括将分离后的液体冷冻处理，得到提取液。
- [权利要求 8] 根据权利要求5所述的方法，其特征在于，所述步骤（1）还包括将分离后的液体冷冻处理，得到提取液。
- [权利要求 9] 根据权利要求6所述的方法，其特征在于，所述步骤（1）还包括将分离后的液体冷冻处理，得到提取液。
- [权利要求 10] 根据权利要求7-9任一所述的方法，其特征在于，所述冷冻处理的条件为：温度-15°C~ -20°C，时间1.5~2.5 h。

- [权利要求 11] 根据权利要1~4任一所述的方法，其特征在于，所述步骤（2）还包括加入无水 MgSO_4 与吸附剂配合使用，进一步除去水分和提取液中的脂肪类杂质，得到多酚溶液。
- [权利要求 12] 根据权利要5所述的方法，其特征在于，所述步骤（2）还包括加入无水 MgSO_4 与吸附剂配合使用，进一步除去水分和提取液中的脂肪类杂质，得到多酚溶液。
- [权利要求 13] 根据权利要6所述的方法，其特征在于，所述步骤（2）还包括加入无水 MgSO_4 与吸附剂配合使用，进一步除去水分和提取液中的脂肪类杂质，得到多酚溶液。
- [权利要求 14] 一种植物油中多酚的检测方法，所述方法是利用权利要求1~4任一所述的方法对植物油作前处理，得到多酚溶液，然后进行检测。
- [权利要求 15] 一种植物油中多酚的检测方法，所述方法是利用权利要求6所述的方法对植物油作前处理，得到多酚溶液，然后进行检测。
- [权利要求 16] 一种植物油中多酚的液相色谱检测方法，所述方法是利用权利要求1~4任一所述的方法对植物油作前处理，得到多酚的液体样品，然后进行液相色谱检测。
- [权利要求 17] 一种植物油中多酚的液相色谱检测方法，所述方法是利用权利要求6所述的方法对植物油作前处理，得到多酚的液体样品，然后进行液相色谱检测。

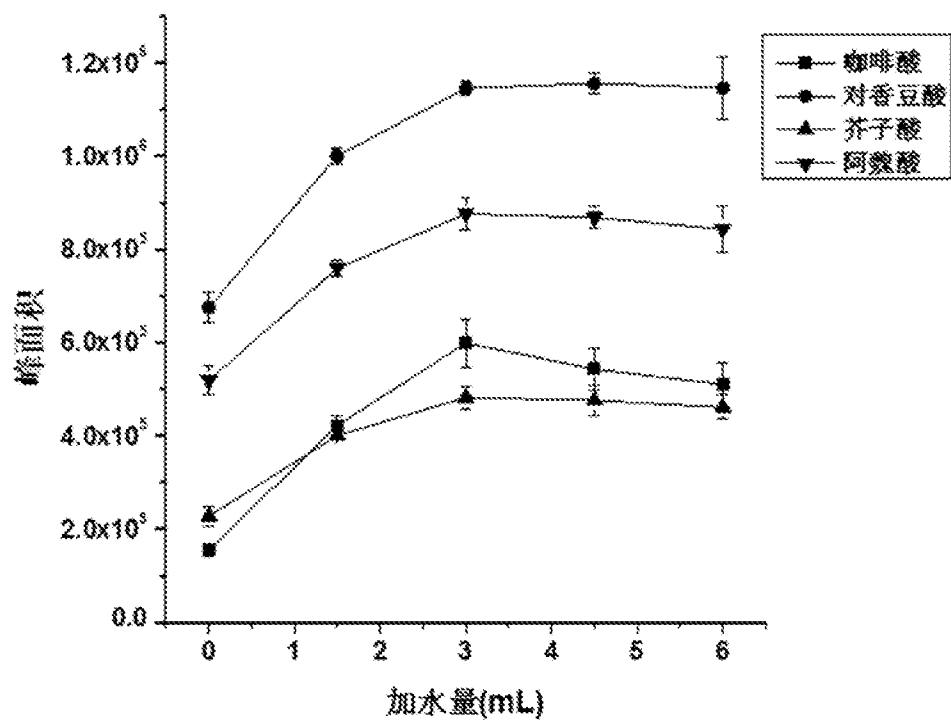


图 1

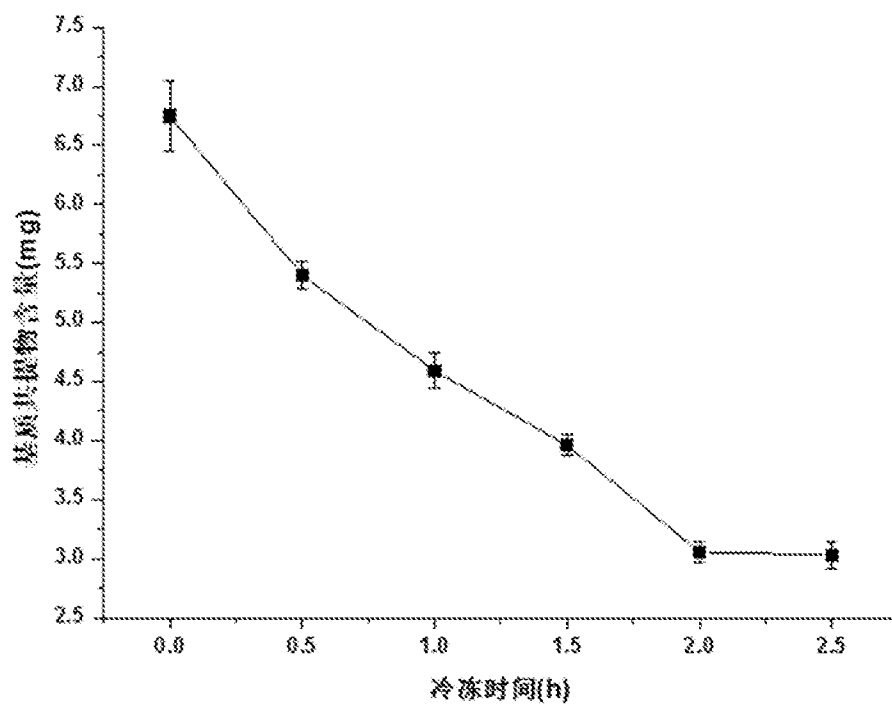


图 2

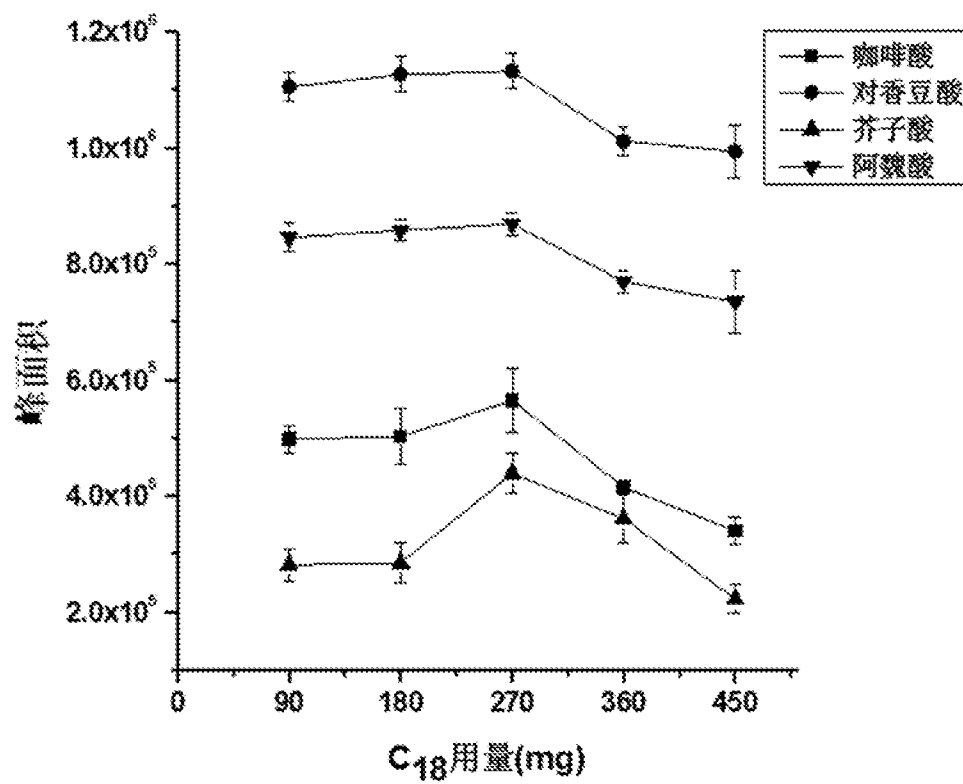


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/113576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 30/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, WPI, EPODOC, CNKI, ISI: 江南大学, 刘元法, 宋军鸽, 李进伟, 曹晨, 徐勇将, 翟颖红, 菜籽油, 多酚, 含量, 乙腈, 萃取, 提取, 吸附剂, 净化, 分离, 纯化, 体积, rapeseed, oil, analysis, acetonitrile, purif+, polyphenol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 104330498 A (OIL CROPS RESEARCH INSTITUTE, CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES) 04 February 2015 (2015-02-04) description, paragraphs [0041]-[0064], and figures 1-9	1-17
Y	K. Sharmili et al. "Development, Optimization and Validation of QuEChERS Based Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Determination of Multimycotoxin in Vegetable Oil" <i>Food Control</i> , Vol. 70, 22 April 2016 (2016-04-22), the abstract, and sections 2.4 and 3.2	1-17
Y	李凌云 等 (LI, Lingyun et al.). "超高效液相色谱-串联质谱法检测谷物、油料和植物油中氨基甲酸酯类农药残留 (Detection of Residue of Carbamate Pesticides in Grain, Oil Materials and Vegetable Oil by UPLC-MS/MS)" <i>农产品质量与安全 (Quality and Safety of Agro-Products)</i> , No. 5, 31 December 2018 (2018-12-31), part 1	5, 6, 8, 9, 11-13
PX	CN 109884207 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 14 June 2019 (2019-06-14) description, paragraphs [0030]-[0071], and figures 1-3	1-17
A	CN 109307717 A (INFINITUS (CHINA) CO., LTD.) 05 February 2019 (2019-02-05) entire document	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 January 2020

Date of mailing of the international search report

21 January 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/113576**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1506680 A (TEA RESEARCH INSTITUTE, CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES) 23 June 2004 (2004-06-23) entire document	1-17
A	CN 103819311 A (CHENGDU WAGOTT BIO-TECH CO., LTD.) 28 May 2014 (2014-05-28) entire document	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/113576

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	104330498	A	04 February 2015	None			
CN	109884207	A	14 June 2019	None			
CN	109307717	A	05 February 2019	None			
CN	1506680	A	23 June 2004	CN	1210567	C	13 July 2005
CN	103819311	A	28 May 2014	CN	103819311	B	20 January 2016

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/113576

A. 主题的分类 G01N 30/02 (2006.01) i 按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类																				
B. 检索领域 检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号) G01N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用)) CNPAT, WPI, EPDOC, CNKI, ISI; 江南大学, 刘元法, 宋军鸽, 李进伟, 曹晨, 徐勇将, 翟颖红, 菜籽油, 多酚, 含量, 乙腈, 萃取, 提取, 吸附剂, 净化, 分离, 纯化, 体积, rapeseed, oil, analysis, acetonitrile, purif+, polyphenol																				
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 104330498 A (中国农业科学院油料作物研究所) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04) 说明书第[0041]-[0064]段, 图1-9</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>K. Sharmili 等. "Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil" 《Food Control》, 第70卷, 2016年 4月 22日 (2016 - 04 - 22), 摘要, 2.4节, 3.2节</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>李凌云 等. "超高效液相色谱-串联质谱法检测谷物、油料和植物油中氨基甲酸酯类农药残留" 农产品质量与安全, 第5期, 2018年 12月 31日 (2018 - 12 - 31), 第一部分</td> <td>5, 6, 8, 9, 11-13</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>CN 109884207 A (江南大学) 2019年 6月 14日 (2019 - 06 - 14) 说明书第[0030]-[0071]段, 图1-3</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109307717 A (无限极中国有限公司) 2019年 2月 5日 (2019 - 02 - 05) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 104330498 A (中国农业科学院油料作物研究所) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04) 说明书第[0041]-[0064]段, 图1-9	1-17	Y	K. Sharmili 等. "Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil" 《Food Control》, 第70卷, 2016年 4月 22日 (2016 - 04 - 22), 摘要, 2.4节, 3.2节	1-17	Y	李凌云 等. "超高效液相色谱-串联质谱法检测谷物、油料和植物油中氨基甲酸酯类农药残留" 农产品质量与安全, 第5期, 2018年 12月 31日 (2018 - 12 - 31), 第一部分	5, 6, 8, 9, 11-13	PX	CN 109884207 A (江南大学) 2019年 6月 14日 (2019 - 06 - 14) 说明书第[0030]-[0071]段, 图1-3	1-17	A	CN 109307717 A (无限极中国有限公司) 2019年 2月 5日 (2019 - 02 - 05) 全文	1-17
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
Y	CN 104330498 A (中国农业科学院油料作物研究所) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04) 说明书第[0041]-[0064]段, 图1-9	1-17																		
Y	K. Sharmili 等. "Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil" 《Food Control》, 第70卷, 2016年 4月 22日 (2016 - 04 - 22), 摘要, 2.4节, 3.2节	1-17																		
Y	李凌云 等. "超高效液相色谱-串联质谱法检测谷物、油料和植物油中氨基甲酸酯类农药残留" 农产品质量与安全, 第5期, 2018年 12月 31日 (2018 - 12 - 31), 第一部分	5, 6, 8, 9, 11-13																		
PX	CN 109884207 A (江南大学) 2019年 6月 14日 (2019 - 06 - 14) 说明书第[0030]-[0071]段, 图1-3	1-17																		
A	CN 109307717 A (无限极中国有限公司) 2019年 2月 5日 (2019 - 02 - 05) 全文	1-17																		
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																				
<table border="0"> <tr> <td> * 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 </td> <td> "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件 </td> </tr> </table>			* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																			
国际检索实际完成的日期 2020年 1月 8日		国际检索报告邮寄日期 2020年 1月 21日																		
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 贾晶晶 电话号码 86-(10)-53962442																		

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 1506680 A (中国农业科学院茶叶研究所) 2004年 6月 23日 (2004 - 06 - 23) 全文	1-17
A	CN 103819311 A (成都华高生物制品有限公司) 2014年 5月 28日 (2014 - 05 - 28) 全文	1-17

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/113576

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	104330498	A	2015年 2月 4日	无	
CN	109884207	A	2019年 6月 14日	无	
CN	109307717	A	2019年 2月 5日	无	
CN	1506680	A	2004年 6月 23日	CN 1210567	C 2005年 7月 13日
CN	103819311	A	2014年 5月 28日	CN 103819311	B 2016年 1月 20日