



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109884207 B

(45) 授权公告日 2020.12.01

(21) 申请号 201910194098.1

(22) 申请日 2019.03.14

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 109884207 A

(43) 申请公布日 2019.06.14

(73) 专利权人 江南大学  
地址 214000 江苏省无锡市蠡湖大道1800号

(72) 发明人 刘元法 宋军鸽 李进伟 曹晨  
徐勇将 翟颖红

(74) 专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司 23211  
代理人 张勇

(51) Int. Cl.  
G01N 30/02 (2006.01) (续)

(56) 对比文件  
CN 109307717 A, 2019.02.05  
CN 108254466 A, 2018.07.06  
CN 105738534 A, 2016.07.06  
CN 103837388 A, 2014.06.04  
CN 104330498 A, 2015.02.04

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》.2016,第70卷第152-160页.

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》.2018, (第5期), 第44-48页.

Urairat Koesukwiwat 等. Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry.《ANALYTICA CHIMICA ACTA》.2008,第626卷第10-20页. (续)

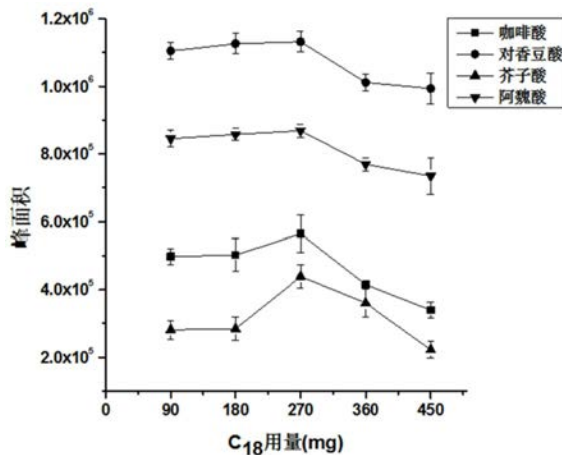
审查员 罗海蔚

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称  
一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法

(57) 摘要  
本发明公开了一种快速准确分析菜籽油中多酚含量的方法,属于天然化合物分析领域。本发明分离方法利用乙腈-水作为萃取剂来提取菜籽油中多酚,并配合C<sub>18</sub>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。



CN 109884207 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

G01N 30/06 (2006.01)

G01N 30/72 (2006.01)

B01J 20/281 (2006.01)

(56) 对比文件

沈伟健 等.气相色谱-负化学电离质谱法测定食用植物油中5种酰基吡唑类农药残留.《色

谱》.2019,第37卷(第1期),第27-31页.

赵琴.食用油安全分析新方法研究.《中国博士学位论文全文数据库 工程技术I辑》.2017,(第6期),全文.

孙群.基于碳纳米管材料的样品前处理方法及其在农药残留检测方面的应用.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程技术I辑》.2017,(第10期),全文.

1. 一种植物油中多酚的液相色谱检测方法,所述方法是对植物油作前处理,得到多酚的液体样品,然后进行液相色谱检测;所述前处理方法包括:

(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 $C_{18}$  20~35mg/mL,固液分离后即得多酚溶液;

所述萃取剂中乙腈与水的体积比为6:1或者8:1;

所述步骤(1)中菜籽油与萃取剂的质量体积比为6g/21mL;

所述步骤(1)还包括将分离后的液体冷冻处理,得到提取液,所述冷冻处理的条件为:温度 $-15^{\circ}\text{C}\sim-20^{\circ}\text{C}$ ,时间1.5~2.5h;

所述步骤(1)还包括加入无水 $\text{MgSO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ ,与萃取剂配合作用;

所述步骤(2)还包括加入无水 $\text{MgSO}_4$ 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;

所述多酚为原儿茶酸、对羟基苯甲酸、咖啡酸、香草酸、丁香酸、对香豆酸、芥子酸、阿魏酸、肉桂酸、芥子碱。

2. 根据权利要求 1所述的方法,其特征在于,所述无水 $\text{MgSO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 的质量比为2:1~6:1。

## 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。

### 发明内容

[0004] 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。

[0005] 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。

[0006] 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:

[0007] (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;

[0008] (2) 向步骤(1)所得提取液中加入吸附剂C<sub>18</sub>25~35mg/mL,分离除去固体成分,即得多酚溶液。

[0009] 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。

[0010] 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。

[0011] 本发明的一种实施方式中,所述步骤(1)还包括加入无水MgSO<sub>4</sub>和NaCl,与萃取剂配合作用。

[0012] 本发明的一种实施方式中,所述无水MgSO<sub>4</sub>和NaCl的质量比为2:1~6:1。

[0013] 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。

[0014] 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1.5~2.5h。

[0015] 本发明的一种实施方式中,所述步骤(2)还包括加入无水MgSO<sub>4</sub>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。

[0016] 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3000~5000rpm。

[0017] 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。

[0018] 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。

[0019] 本发明的一种实施方式中,所述溶剂包括甲醇。

[0020] 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。

[0021] 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,1.9μm),柱温箱温度为30-40℃。

[0022] 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。

[0023] 本发明有益效果:

[0024] 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C<sub>18</sub>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。

## 附图说明

[0025] 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;

[0026] 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;

[0027] 图3为以实施例1作为参照,考察C<sub>18</sub>用量对多酚提取效果的影响图。

## 具体实施方式

[0028] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。

[0029] 实施例1:

[0030] 分离处理:准确称取6.00g菜籽油于50mL离心管中,加入3mL水和18mL乙腈,振荡

5min;加入7.2g无水MgSO<sub>4</sub>和1.8gNaCl,振荡2min,然后于4000rpm条件下,离心5min;移取上清液至离心管中,-20℃冷冻2h;移取9mL上清液至15mL离心管中,加入270mg C<sub>18</sub>和1.8g无水MgSO<sub>4</sub>,振荡2min,然后于4000rpm条件下,离心5min;得到上清液,即为多酚溶液。

[0031] 实施例2:

[0032] 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℃;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。

[0033] (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℃下储存。通过用甲醇稀释储备溶液来制备工作溶液。

[0034] (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。

[0035] 表1线性范围、检出限和定量限的测定

	化合物	回归方程	相关系数 R <sup>2</sup>	线性范围 (μg/mL)	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
[0036]	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
[0037]	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

[0038] (3) 准确移取4.5mL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1.5mL,用0.22μm滤膜过滤至样品瓶中,进行HPLC-MS测定。

[0039] (4) 加标回收率:对实际样品加标10μg/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。

[0040] 表2加标回收率测定

化合物	加标回收率
原儿茶酸	86.17 <sup>a</sup> ±8.03 <sup>b</sup>
对羟基苯甲酸	99.23±4.83
咖啡酸	91.06±4.13
香草酸	99.53±3.33
[0041] 丁香酸	100.34±0.86
对香豆酸	99.71±1.48
芥子酸	101.90±3.24
阿魏酸	102.95±1.74
肉桂酸	81.31±2.95
芥子碱	97.96±7.90

[0042] <sup>a</sup>平均回收率, %; <sup>b</sup>相对标准偏差 (RSD, %)。

[0043] 实施例3:

[0044] 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。

[0045] 表3实施例3制得样品的检测结果

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)
[0047] 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

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)
3.0mL 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

C <sub>18</sub> 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2.50g菜籽油,溶于3mL正己烷中,振荡1min;分别用3mL体积分数80%甲醇溶液提取3次,每次振荡5min,于4000rpm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2.5mL,用0.22μm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5mL甲醇和5mL正己烷活化SPE柱;准确称取1.50g菜籽油,溶于5mL正己烷中,振荡1min;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5mL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1.5mL,用0.22μm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



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
[0061] 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C<sub>18</sub>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

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)
[0066] 乙腈	154868(9.34)	674863(4.80)	227807(9.01)	519482(6.05)
[0067] 乙腈和水	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)

[0068] 对照例4:

[0069] 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。

[0070] 表8对照例4所得样品的检测结果

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)
[0071] 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)
C <sub>18</sub>	564683(9.93)	1132224(2.74)	439369(7.74)	868811(2.18)

[0072] 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。

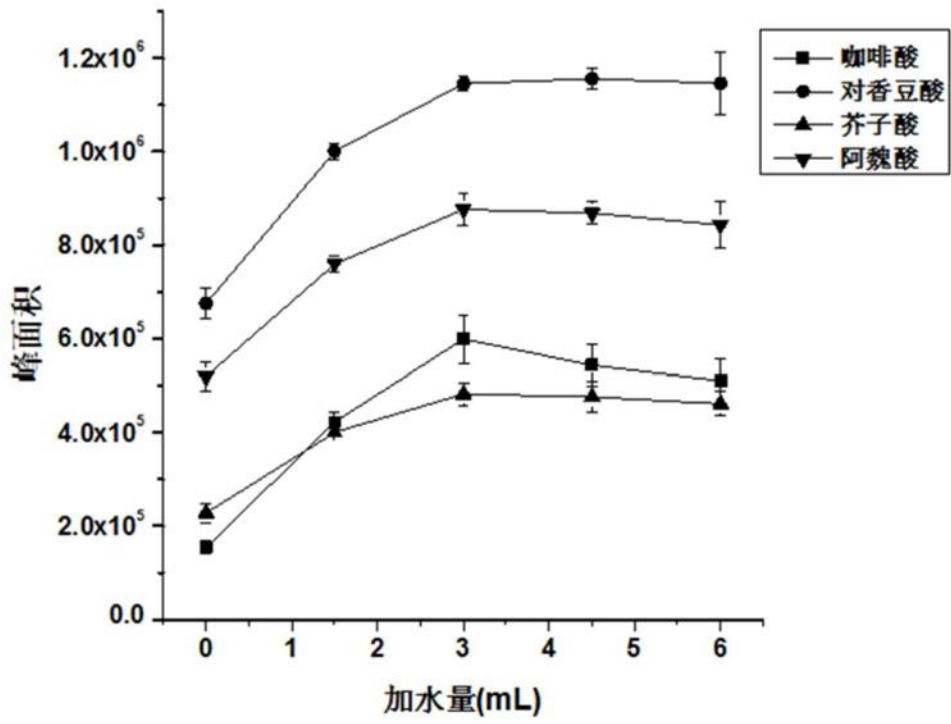


图1

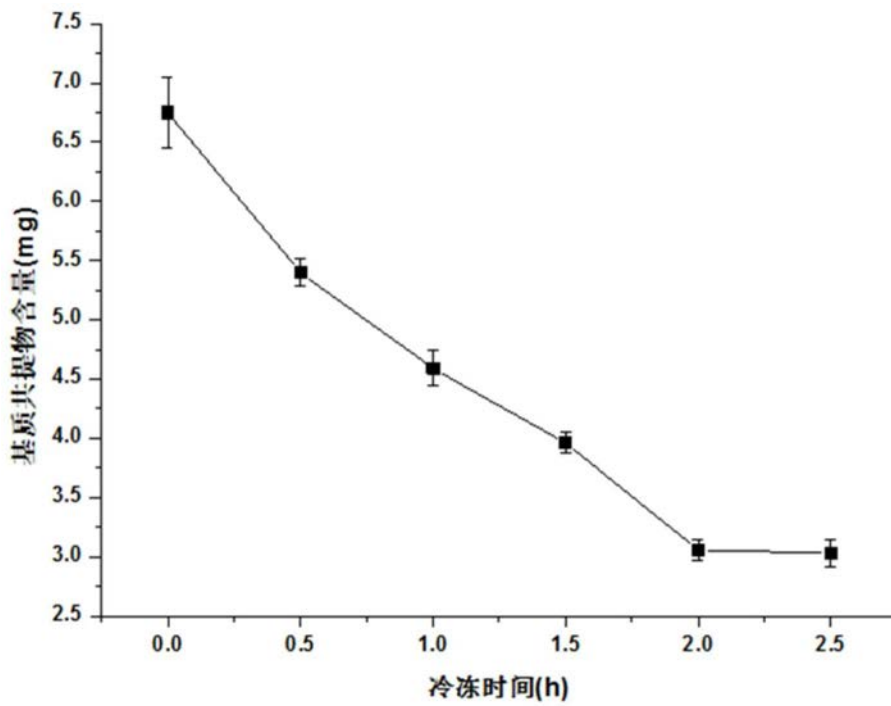


图2

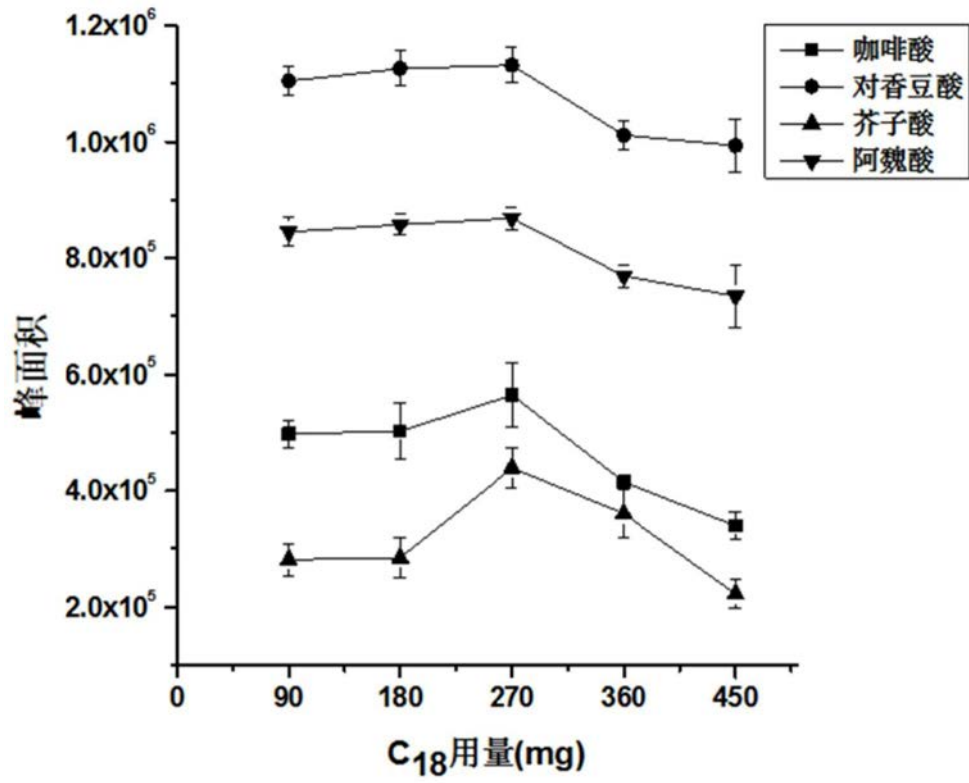


图3