

# 低共熔溶剂液液微萃取高效液相色谱法 检测调味油中 6 种工业染料

余文琴\*, 肖昭竞, 冉宗勤, 阮 燕, 谢蔓莉

(重庆市计量质量检测研究院国家农副加工产品及调味品质量检验检测中心, 重庆 401123)

**摘 要: 目的** 建立一种基于低共熔溶剂(deep eutectic solvent, DES)液液微萃取结合高效液相色谱法检测调味油中 6 种工业染料的分析方法。**方法** 合成了 8 种不同 DES 并对比了其酸性橙 II、碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22、碱性嫩黄 O、罗丹明 B 的萃取效率, 研究了取样量、DES 摩尔比、DES 添加量以及正己烷添加比例对萃取率的影响。**结果** 采用氯化胆碱: L(+)-乳酸(摩尔比 1:3)组成的 DES, 当取样量为 1 g, 添加 1 mL 正己烷, DES 用量为 600  $\mu$ L 的条件下萃取率最高。6 种工业染料在 0.05~2.00 mg/L(罗丹明 B: 0.05~2.00  $\mu$ g/L)浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.9998, 在 0.05、0.10、1.00 mg/kg(罗丹明 B: 0.05、0.10、1.00  $\mu$ g/kg) 3 个不同浓度添加水平下回收率为 67.5%~115.8%, 相对标准偏差为 1.5%~11.6%, 检出限为 0.02~20.00  $\mu$ g/kg, 定量限为 0.05~50.00  $\mu$ g/kg。**结论** 该方法对调味油中 6 种工业染料有很好的选择性和萃取效果, 采用绿色环保的 DES 萃取目标物, 减少了有机试剂的用量。

**关键词:** 低共熔溶剂; 液液微萃取; 高效液相色谱法; 工业染料; 调味油

## Determination of 6 kinds of industrial dyes in flavoured oil by deep eutectic solvent liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography

YU Wen-Qin\*, XIAO Zhao-Jing, RAN Zong-Qin, RUAN Yan, XIE Man-Li

(Inspection on Agricultural Processed Products and Condiments, Chongqing Academy of Metrology and Quality Inspection, Chongqing 401123, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an analytical method for the determination of 6 kinds of industrial dyes in flavored oil based on liquid-liquid microextraction with deep eutectic solvent (DES) combined with high performance liquid chromatography. **Methods** Eight kinds of DES were synthesized and the extraction efficiency of acidic orange II, basic orange 2, basic orange 21, basic orange 22, auramine O and rhodamine B were compared. The effects of sample quality, DES mole ratio, DES addition amount and *n*-hexane addition ratio on the extraction efficiency were studied. **Results** The results showed that the extraction efficiency of DES composed of choline chloride: L(+)-lactic acid (mole ratio 1:3) was the highest when the sample quality was 1 g, the dosage of DES was 600  $\mu$ L and the dosage of *n*-hexane was 1 mL. The linear relationship of 6 kinds of industrial dyes in the concentration

基金项目: 重庆市市场监督管理局项目(CQSJKJ2020002)

Fund: Supported by the Chongqing Administration for Market Regulation (CQSJKJ2020002)

\*通信作者: 余文琴, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。E-mail: kathy198813@126.com

\*Corresponding author: YU Wen-Qin, Master, Senior Engineer, Chongqing Academy of Metrology and Quality Inspection, No.3, North Yangliu Road, Yubei District, Chongqing 401123, China. E-mail: kathy198813@126.com

range of 0.05–2.00 mg/L (rhodamine B: 0.05–2.00  $\mu\text{g/L}$ ) were good, the correlation coefficients were all greater than 0.9998, the recoveries at 0.05, 0.10, 1.00 mg/kg (rhodamine B: 0.05, 0.10, 1.00  $\mu\text{g/kg}$ ) were 67.5%–115.8% with relative standard deviations of 1.5%–11.6%, the limits of detection were 0.02–20.00  $\mu\text{g/kg}$ , and the limits of quantification were 0.05–50.00  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. **Conclusion** This method has good selectivity and extraction effect for 6 kinds of industrial dyes in flavoured oil, the green environmental protection DES is used to extract target substances, which greatly reduces the amount of organic reagents.

**KEY WORDS:** deep eutectic solvent; liquid-liquid microextraction; high performance liquid chromatography; industrial dyes; flavoured oil

## 0 引言

食用调味油是以食用植物油为原料,从食用植物或植物籽粒中提取呈香呈味物质混溶于食用植物油中的调味品,主要有芝麻油、花椒油、辣椒油、胡麻油等。近年来,在大豆油、棕榈油等中违法添加香色素,冒充芝麻油、花生油、菜籽油等高价食用植物油的加工行为屡有发生。由于工业染料价格便宜,着色力强,一些不法商贩为了牟利,甚至违法使用工业染料对食用油进行调色来假冒调味油。工业染料很多具有高毒性、高残留和“三致”等副作用<sup>[1]</sup>,严令禁止添加到食品中。2008年以来陆续发布了6批《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单》,名单包括酸性橙II、碱性橙2、罗丹明B、碱性嫩黄等,现有同时检测食品中多种工业染料的方法主要是液相色谱-串联质谱法<sup>[2-5]</sup>,该方法需要消耗大量的有机试剂,因此开发绿色环保、简单、快速、有效的多种工业染料的分析方法十分重要。

低共熔溶剂(deep eutectic solvent, DES)通常是由氢键受体(hydrogen bond acceptor, HBA)(如季铵盐与金属盐)和氢键供体(hydrogen bond donor, HBD)(如胺、羧酸、醇、多元醇或碳水化合物)络合得到的<sup>[6]</sup>,熔点显著下降,具有价格便宜、合成简单、绿色环保、高生物降解性<sup>[7]</sup>、极低挥发性和高热稳定性等优点<sup>[8-9]</sup>。DES主要通过氢键、范德华力、 $\pi$ - $\pi$ 作用力提取目标组分<sup>[10]</sup>,已逐渐应用于食品中农药残留<sup>[11-13]</sup>、兽药残留<sup>[14-16]</sup>、非法添加物<sup>[17-19]</sup>、环境污染物质<sup>[20-22]</sup>、生物毒素<sup>[23-24]</sup>、添加剂<sup>[25-26]</sup>、金属离子<sup>[27-28]</sup>等的检测。近年来已有将DES应用于工业染料提取检测的相关报道,ZHU等<sup>[29]</sup>用氯化胆碱和乙二醇提取红辣椒粉中的碱性橙2、碱性橙21和碱性橙22;刘慧强等<sup>[17]</sup>用氯化胆碱和乙二醇合成的DES萃取调味油中酸性橙II、碱性橙21和碱性橙22;WANG等<sup>[19]</sup>用氯化胆碱和乙二醇合成的DES富集辣椒油中的微量罗丹明B,以上研究表明氯化胆碱和乙二醇合成的DES对油脂中酸性橙II、碱性橙21和碱性橙22有较好的富集效果,但采用氯化胆碱和乙二醇组成的DES对罗丹明B的富集效果较差,WANG等<sup>[19]</sup>研究表明回收率仅56.2%~73.9%。

因此,本研究合成了一种可以同时提取调味油中酸性橙II、碱性橙2、碱性橙21、碱性橙22、碱性嫩黄O和罗丹明B6种组分的新型DES,并开发一种基于DES的液液微萃取快速检测调味油中6种工业染料的液相色谱检测方法,以期提高罗丹明B的回收率,同时实现调味油中6种工业染料的同时测定,减少有机溶剂的使用,为调味油中非法添加物的检测提供技术保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

甲醇、乙腈(色谱纯,北京百灵威科技有效公司);乙酸铵(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);正己烷(色谱纯,成都市诺尔施科技有限责任公司);氯化胆碱、樟脑、尿素、百里香酚、L(+)-乳酸、1,2-丙二醇、1,3-丁二醇(分析纯,成都市科隆化学品有限公司);丙三醇、乙二醇(分析纯,广东光华科技股份有限公司);邻甲酚(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);混合甲酚(分析纯,上海麦克林试剂公司);酸性橙II(纯度 $\geq 97.2\%$ )(天津阿尔塔科技有限公司);碱性橙2(纯度 $\geq 99.7\%$ )、碱性橙21(纯度 $\geq 96.5\%$ )、碱性嫩黄O(纯度 $\geq 84.5\%$ )、碱性橙22(纯度 $\geq 96.7\%$ )、罗丹明B(纯度 $\geq 96.9\%$ )(北京曼哈格生物科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

LC-20A 高效液相色谱仪[配备二级管阵列检测器(diode array detector, DAD)、荧光检测器(fluorescence detector, FLD)](日本岛津公司); TENSOR 27 傅里叶红外光谱仪(德国布鲁克公司); QT-2A 涡旋混合器(上海琪特分析仪器有限公司); IKA-WERKE 加热板(德国艾卡集团); CF-16RN 离心机(日本株式会社日立制作所); Minilab 全自动稀释配标仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); QUINTIX3102-1CN 分析天平(精度 0.01 g)、SECURA225D-1CN 分析天平(精度 0.01 mg)(德国赛多利斯公司); Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 美国安捷伦公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 标准溶液配制

准确称取6种标准品各10 mg,用甲醇溶解并定容至

10 mL, 配制成 1000 mg/L 的标准储备液, 再用甲醇稀释成 100 mg/L 的混合标准中间液,  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。使用时用甲醇稀释成不同浓度的标准使用液, 现用现配。

### 1.3.2 DES 的制备

以氯化胆碱、樟脑为 HBA, 尿素、*L*(+)-乳酸、1,3-丁二醇、1,2-丙二醇、乙二醇、丙三醇、邻甲酚、混合甲酚、百里香酚分别为 HBD, 按照 1:2 摩尔比例将其混合于烧杯中, 在  $80^{\circ}\text{C}$  条件下磁力搅拌 4 h 直至形成澄清透明的溶液, 所得 DES 组成及配比见表 1。

表 1 DES 的组成  
Table 1 Composition of the DES

编号	HBA	HBD
DES-1	氯化胆碱	尿素
DES-2	氯化胆碱	乙二醇
DES-3	氯化胆碱	丙三醇
DES-4	氯化胆碱	<i>L</i> (+)-乳酸
DES-5	氯化胆碱	1,2-丙二醇
DES-6	氯化胆碱	1,3-丁二醇
DES-7	氯化胆碱	邻甲酚
DES-8	氯化胆碱	混合甲酚
DES-9	百里香酚	樟脑

### 1.3.3 样品前处理方法

准确称取 1 g 油脂样品, 加入 1 mL 正己烷, 涡旋混合 1 min 以分散油脂, 加入 600  $\mu\text{L}$  DES, 涡旋混合 2 min,  $8264\times g$  离心 3 min, 吸取下层 DES 于 2 mL 离心管中, 加入 400  $\mu\text{L}$  甲醇混合均匀,  $13350\times g$  高速离心 3 min, 用注射器吸取下层液体适量进高效液相色谱分析。

### 1.3.4 低共熔溶剂萃取条件的优化

以阴性菜籽油为样品基质, 称取样品后加入 50  $\mu\text{L}$  100 mg/L 的 6 种染料混合标准中间液, 分别研究了 DES 种类、摩尔比、取样量、样品与正己烷添加比例及 DES 加入量对萃取率的影响。每次实验只改变一个因素, 其他因素同 1.3.3, 每组实验结果均以 3 次测定的平均值计。

### 1.3.5 仪器条件

柱温:  $35^{\circ}\text{C}$ ; 进样体积为 20  $\mu\text{L}$ ; DAD 检测器波长: 酸性橙 II、碱性橙 21、碱性橙 2 为 485 nm, 碱性嫩黄 O 为 436 nm, 碱性橙 22 为 449 nm; FLD 检测器条件: 激发波长 550 nm, 发射波长 580 nm; 流动相: A 为乙腈, B 为 20 mmol/L 乙酸铵溶液, 梯度洗脱条件: 0~4 min, 40% A; 4~6 min, 40% A~100% A; 6~12 min, 100% A; 12~15 min, 100% A~40% A; 15~20 min, 40% A。

## 1.4 数据处理

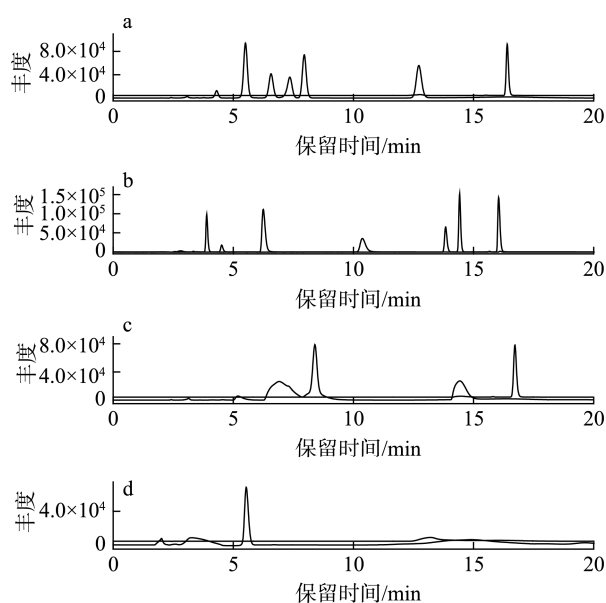
采用岛津 Lab Solution 5.98 进行数据分析, 每次实验重复 3 次, 并将获得的数据导出采用 Origin Pro 2016 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 仪器条件的优化

#### 2.1.1 流动相的选择

不同流动相组成极性、洗脱能力、背压、黏度等有较大差异, 对 6 种工业染料的分离有很大的影响。本研究对比了乙腈-水、甲醇-水、甲醇-乙酸铵溶液、乙腈-乙酸铵溶液 4 种不同流动相组成对目标化合物分离的影响, 结果见图 1。结果表明, 乙腈-水、甲醇-水体系下部分化合物峰重叠, 不能实现 6 种化合物的分离, 甲醇-乙酸铵溶液、乙腈-乙酸铵溶液体系均可实现 6 种化合物的分离, 但乙腈-乙酸铵溶液体系中峰型更加尖锐, 乙腈洗脱能力优于甲醇, 因此乙腈-乙酸铵体系分离度更高, 且乙腈体系背压低, 故选择乙腈-乙酸铵体系作为流动相。



注: a 为甲醇-乙酸铵溶液; b 为乙腈-乙酸铵溶液; c 为乙腈-水; d 为甲醇-水。

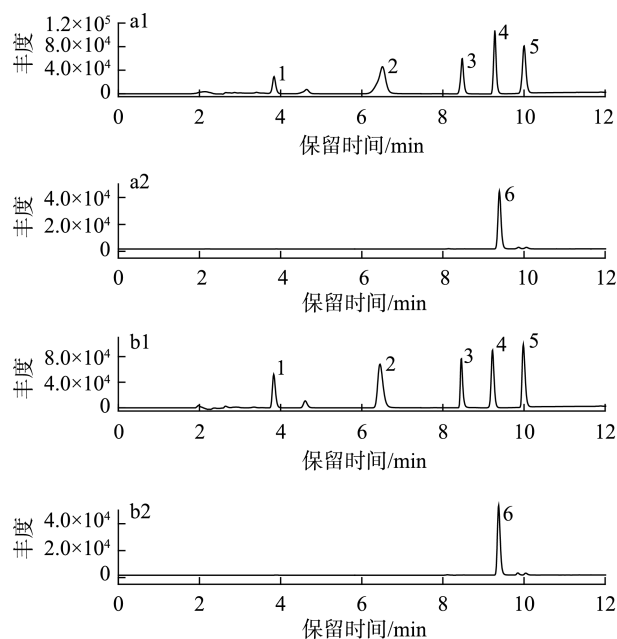
图 1 不同流动相色谱图

Fig.1 Chromatograms of different mobile phase

#### 2.1.2 不同定容溶剂对色谱图的影响

研究表明, DES 可以作为液相色谱流动相的改性剂, 可以显著提高色谱分离效果<sup>[30-31]</sup>。研究中发现上样液中添加一定量的 DES 对部分化合物响应有明显增强, 对化合物的峰型也有较大影响。因此采用甲醇、甲醇:DES (1:1, *V/V*, 下同)、甲醇:DES (2:1)、甲醇:DES (5:1) 分别配制质量浓度为 5 mg/L 的目标化合物混标上机分析, 结果表明 DES 中添加不同比例的甲醇对色谱峰型以及各色谱峰参数结果无明显影响, 因此选择甲醇:DES (1:1) 作为后续讨论对象与甲醇作对比, 结果见图 2 和表 2。上样液中 DES 的存在对

酸性橙II响应有明显增强,增强效应达到 160%左右,添加了DES的上样液中各目标化合物峰型变得更加尖锐,峰高和分离度更高,分离度更好。从表 2 可以看出,5%处的峰宽和半峰宽均更小,表明添加一定量DES各目标化合物分离效果更好。考虑DES中甲醇比例的增大对各化合物的响应及色谱峰的分离基本没有影响,因此以甲醇:DES添加比例为1:1作为上样定容液。



注: a1 为甲醇-DAD 谱图; a2 为甲醇-FLD 谱图; b1 为 DES:甲醇(1:1)-DAD 谱图; b2 为 DES:甲醇(1:1)-FLD 谱图; 1 为酸性橙II; 2 为碱性嫩黄 O; 3 为碱性橙 21; 4 为碱性橙 2; 5 为碱性橙 22; 6 为罗丹明 B。

图 2 不同定容溶剂下的色谱图

Fig.2 Chromatograms of different constant volume solvent

## 2.2 低共熔溶剂萃取条件优化

### 2.2.1 DES 种类对萃取率的影响

不同种类 DES 由于组分不同,物理化学性质差异较大,因此提取效率差异也较大。樟脑和百里香酚合成的 DES-9 提取后无法分层,其余 8 组 DESs 结果如图 3 所示。结果表明氯化胆碱和乙二醇合成的 DES-2 对酸性橙II、碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22 和碱性嫩黄 O 有较好的富集效果,但对罗丹明 B 富集效果较差,仅 40%左右;DES-4、DES-7、DES-8 提取效率较高,由于 DES-7 和 DES-8 提取后的液相色谱图有较多杂质峰,会干扰目标物的检测,且甲醇和混合甲酚挥发性均较强,有刺鼻气味,不利于后续实验开展,氯化胆碱和 L(+)-乳酸合成的 DES-4 对罗丹明 B 的富集效果是氯化胆碱和乙二醇合成的 DES-2 的 2.5 倍左右,回收率接近 100%,对其余组分的富集效果与 DES-2 相当,均大于 60%,故选择氯化胆碱和 L(+)-乳酸合成的 DES-4 作为下一步研究对象。

### 2.2.2 DES 摩尔比对提取率的影响

HBA/HBD 摩尔比对 DES 的密度、黏度等有影响<sup>[6]</sup>,进而影响目标化合物的提取效果。选择提取率较高的氯化胆碱-L(+)-乳酸体系,分别按照 1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3 摩尔比合成 DES 并研究其对目标物萃取率的影响。结果表明随着 L(+)-乳酸比例增加,各组分回收率变化不大,考虑 L(+)-乳酸摩尔比较低时合成的 DES 黏度较大,实验取用难度较大,用其进行实验的误差也较大,故选择氯化胆碱:L(+)-乳酸摩尔比为 1:3。

### 2.2.3 样品质量对提取率的影响

研究了不同质量的油脂样品量(1、2、3、4、5 g)对萃取率的影响。随着样品量逐渐增大,各组分提取率明显降低,考虑为样品量较大时增强了目标化合物在油脂中的扩散,使之不容易被 DES 提取出来。因此选择取样质量为 1 g。

表 2 不同定容溶剂中 6 种工业染料的液相色谱参数对比表

Table 2 Comparative table of liquid chromatogram parameters of 6 kinds of industrial dyes in different constant volume solvents

化合物	定容溶剂	峰面积	峰高	分离度	峰宽(5%)	半峰宽(5%)
碱性橙 22	DES:甲醇(1:1)	521497	98995	4.907	0.179	0.062
	甲醇	497068	80166	4.583	0.217	0.099
酸性橙II	DES:甲醇(1:1)	433553	79922	2.108	0.184	0.074
	甲醇	260023	44826	0.371	0.209	0.100
碱性橙 21	DES:甲醇(1:1)	553786	131740	3.131	0.149	0.052
	甲醇	534583	102396	2.644	0.191	0.091
碱性橙 2	DES:甲醇(1:1)	984031	187815	4.908	0.178	0.062
	甲醇	944805	152348	4.581	0.217	0.099
碱性嫩黄 O	DES:甲醇(1:1)	733750	78558	8.222	0.313	0.120
	甲醇	710721	52828	6.287	0.499	0.298
罗丹明 B	DES:甲醇(1:1)	257418	51735	8.604	0.171	0.068
	甲醇	250832	45579	7.914	0.189	0.083

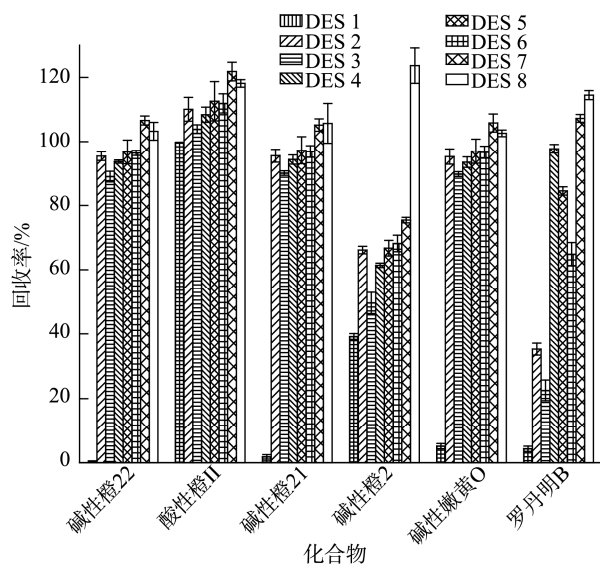


图 3 不同 DES 种类提取效果对比图

Fig.3 Comparison of extraction effects of different DESs

#### 2.2.4 样品量与正己烷比例对提取率的影响

油脂样品较黏稠, 直接提取存在较大传质阻力, 添加一定量正己烷进行分散有助于目标物的提取。研究了取样量与正己烷添加比例(1:1、1:2、1:3、1:4、1:5)对萃取率的影响。结果表明, 随着正己烷添加量的增加, 除罗丹明 B 提取效率明显降低, 其余化合物变化较小, 考虑加入一定量正己烷可以降低样品黏度, 增加传质, 但是正己烷具有一定毒性, 故选择样品量与正己烷添加比例为 1:1。

#### 2.2.5 DES 体积对提取率的影响

DES 作为液液微萃取的萃取剂, 通过氢键作用萃取油脂中的目标化合物, 一定量 DES 提取富集目标化合物的能力是有限的, 因此 DES 的体积对萃取率有较大影响。研究了 100~700  $\mu\text{L}$  DES 添加量的萃取率。随着 DES 体积的增大, 各组分的提取率呈增大趋势, 是由于目标化合物在 DES 中具有更好的溶解性, 体积超过 600  $\mu\text{L}$  后提取率下降, 是由于 DES 具有一定的黏度, 高黏度相体积越大, 两相间的传质受到阻碍, 因此提取效率反而降低。当 DES 添加量为 600  $\mu\text{L}$  时提取率最好, 故选择 DES 添加量为 600  $\mu\text{L}$ 。

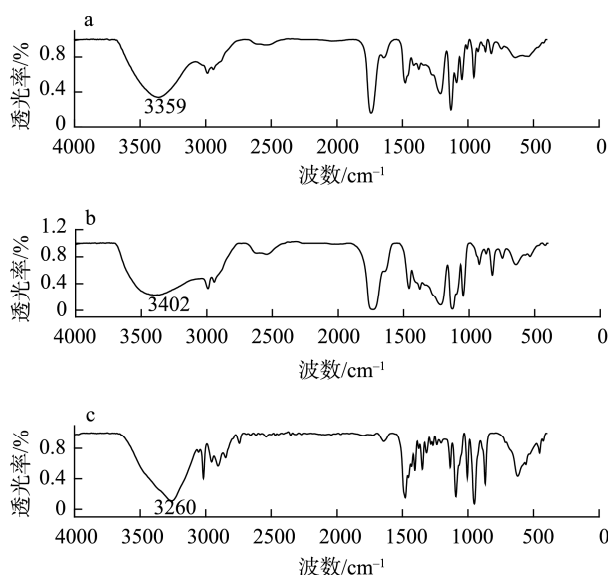
### 2.3 氯化胆碱、L(+)-乳酸和 DES 的红外光谱分析

DES 的主要作用力是分子间氢键。氯化胆碱、L(+)-乳酸和氯化胆碱与 L(+)-乳酸合成的 DES 的红外光谱图如图 4 所示。从图 4 的 DES 的红外谱图可以看出, L(+)-乳酸在 O-H 振动吸收峰由 3402  $\text{cm}^{-1}$  转移至 3359  $\text{cm}^{-1}$ , 吸收峰向低波数偏移, 说明化学键的伸缩振动减弱, 形成了分子间氢键。综上, 氯化胆碱与 L(+)-乳酸合成的 DES 存在氢键作用力。

### 2.4 常规有机溶剂提取与 DES 提取效果对比

本研究中 6 种工业染料使用有机试剂进行提取, 进一步净化后上机检测, 研究对比了常规有机试剂(甲醇)与

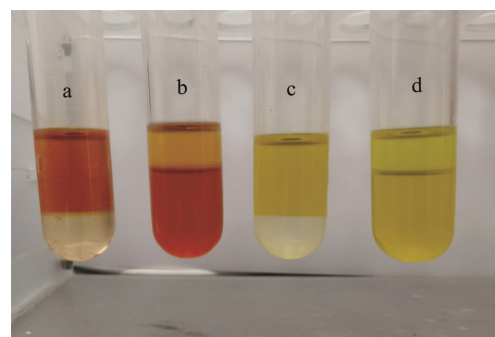
DES 提取效果, 结果如图 5、6 所示。从图 5 中可以看出, 甲醇(上层)提取的火锅油和胡麻油颜色明显比 DES(下层)提取后深, 说明甲醇在提取目标化合物的同时也将其他天然色素提取出来, 后续需经过复杂的净化才能去除杂质; 而 DES 提取后的样液颜色较浅, 说明 DES 比甲醇对本研究中 6 种工业染料有更好的选择性。为了进一步验证, 分析了波长 500 nm 下的色谱图(图 6), DES 提取后的色谱图较干净, 而甲醇提取后的色谱图出现较多干扰峰, 因此进一步证实与甲醇相比, DES 对本研究中 6 种工业染料具有更好的选择性。原因可能是因为植物中天然色素一般是类胡萝卜素类物质, 如辣椒中辣椒红素<sup>[32]</sup>, 由于其结构与 6 种非法添加工业染料差异较大, 而且极性较弱, 易溶于醇类, 而 DES 各组分之间有较强的分子间氢键作用, 极性较强, 因此大多数天然色素在 DES 中溶解性较差。综上, 本研究合成的 DES 对调味油中 6 种工业染料具有较好的选择性。



注: a 为 DES-4; b 为 L(+)-乳酸; c 为氯化胆碱。

图 4 氯化胆碱、L(+)-乳酸和 DES-4 的傅立叶红外光谱图

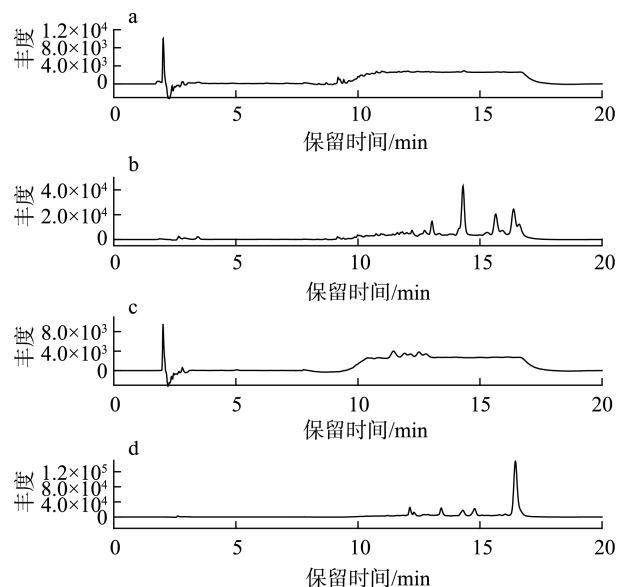
Fig.4 Fourier infrared spectrum of choline chloride, L(+)-lactic acid and DES-4



注: a 为 DES-火锅油; b 为甲醇-火锅油; c 为 DES-胡麻油; d 为甲醇-胡麻油。

图 5 甲醇与 DES 提取效果对比图

Fig.5 Comparison of extraction effects of methanol and DES



注: a 为 DES-火锅油; b 为甲醇-火锅油; c 为 DES-胡麻油;  
d 为甲醇-胡麻油。

图 6 甲醇与 DES 提取的液相色谱对比图

Fig.6 Liquid chromatographic contrast of methanol extracted with DES

## 2.5 方法有效性评价

### 2.5.1 工作曲线、检出限和定量限的确定

在最优实验条件下, 配制质量浓度范围为 0.05~2.00 mg/L(罗丹明 B: 0.05~2.00  $\mu\text{g/L}$ )的 6 种工业染料标准曲线进行分析, 计算各组分校准曲线方程、相关系数、检出限(以 3 倍信噪比计算)、定量限(以 10 倍信噪比计算)(表 3)。可以看出, 各组分在其最优条件下线性关系良好, 相关系数均大于 0.9998, 方法检出限与定量限满足调味油中工业染料的检测需求。

### 2.5.2 加标回收率及精密度实验

在最佳实验条件下, 向空白调味油试样(花椒油、火锅油、胡麻油)中分别加入 0.05、0.10、1.00 mg/kg(罗丹明 B:

0.05、0.10、1.00  $\mu\text{g/kg}$ ) 3 个浓度水平的 6 种工业染料混标, 测定加标回收率及相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs), 结果见表 4。3 种调味油的平均回收率在 67.5%~115.8%之间, RSDs 在 1.5%~11.6%之间。说明该方法准确性和重现性较好, 适用于调味油中 6 种工业染料的快速测定。

表 3 6 种工业染料的校准曲线方程、检出限和定量限

Table 3 Calibration curve equation, limits of detection and limits of quantification of 6 kinds of industrial dyes

化合物	线性方程	检出限 /( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限 /( $\mu\text{g/kg}$ )
碱性橙 22	$Y=103297X+712$	20.00	50.00
酸性橙 II	$Y=86424X-52$	20.00	50.00
碱性橙 21	$Y=110115X-335$	20.00	50.00
碱性橙 2	$Y=33807X-294$	20.00	50.00
碱性嫩黄 O	$Y=148857X-362$	20.00	50.00
罗丹明 B	$Y=52473X+213$	0.02	0.05

### 2.5.3 与其他研究的比较

近些年有一些关于低共熔溶剂提取调味油中工业染料的研究, 均采用氯化胆碱和乙二醇合成的 DES 进行富集提取。如表 5 所示, 本研究采用氯化胆碱和 L(+)-乳酸合成的 DES 对火锅油中 6 种工业染料进行富集提取, 罗丹明 B 的回收率明显高于氯化胆碱和乙二醇合成的 DES, 碱性橙 22、酸性橙 II、碱性橙 21、碱性橙 2 和碱性嫩黄 O 的回收率也均高于 80%, 同时氯化胆碱和 L(+)-乳酸合成的 DES 也表现出较好的选择性。

### 2.5.4 实际样品检测

应用本方法对从市场收集的 28 份调味油(10 份火锅油、10 份辣椒红油、3 份胡麻油、5 份花椒油)进行检测, 其中一份辣椒红油检出酸性橙 II, 含量为 34  $\mu\text{g/kg}$ 。通过实际样品检测表明本方法对 6 种工业染料具有较好的选择性, 可以应用于调味油中 6 种工业染料的含量检测。

表 4 不同调味油中 6 种工业染料添加回收率及精密度

Table 4 Average recoveries and RSDs of 6 kinds of industrial dyes in flavored oils

化合物	添加浓度	花椒油		火锅油		胡麻油	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
碱性橙 22	0.05、0.10、1.00 mg/kg	81.8~96.6	4.2~10.3	96.2~104.2	2.7~8.6	109.9~115.8	3.8~10.5
酸性橙 II	0.05、0.10、1.00 mg/kg	85.0~104.0	4.3~6.6	87.5~103.4	1.7~2.7	90.0~108.5	2.3~3.8
碱性橙 21	0.05、0.10、1.00 mg/kg	77.5~103.6	4.2~5.4	82.5~103.2	1.7~5.3	97.5~107.0	3.3~7.6
碱性橙 2	0.05、0.10、1.00 mg/kg	90.0~106.6	4.7~10.7	81.0~94.2	2.7~10.2	67.5~75.6	4.3~11.6
碱性嫩黄 O	0.05、0.10、1.00 mg/kg	82.5~103.8	3.9~6.5	90.0~103.0	1.5~3.9	80.0~108.5	1.8~6.7
罗丹明 B	0.05、0.10、1.00 $\mu\text{g/kg}$	85.0~100.7	4.4~9.7	85.0~103.0	1.6~4.3	102.0~111.5	2.9~5.0

表 5 不同研究中 6 种工业染料添加回收率的比较(%)  
Table 5 Comparison of recoveries of 6 kinds of industrial dyes in different studies (%)

基质	碱性橙 22	酸性橙 II	碱性橙 21	碱性橙 2	碱性嫩黄 O	罗丹明 B	文献
辣椒油	-	90.3~99.6	-	-	-	-	刘慧强等 <sup>[17]</sup>
辣椒油	-	-	-	-	-	56.2~73.9	WANG 等 <sup>[19]</sup>
辣椒粉	90.4±2.7	-	91.2±2.3	96.0±2.5	-	-	ZHU 等 <sup>[29]</sup>
火锅油	96.2~104.2	87.5~103.4	82.5~103.2	81.0~94.2	90.0~103.0	85.0~103.0	本研究

注: -表示文献未检测。

### 3 结 论

本研究建立了一种低共熔溶剂液液微萃取高效液相色谱法快速检测调味油中酸性橙 II、碱性橙 21、碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 22、罗丹明 B 的方法。低共熔溶剂由氯化胆碱和 L(+)-乳酸按照 1:3 的摩尔比合成, 调味油样品使用正己烷分散后采用 DES 涡旋混合提取目标化合物, 由于氢键作用, 目标化合物迅速进入 DES 层, 通过离心进行相分离后上液相色谱仪测定, 本方法显著提高了罗丹明 B 的回收率, 回收率可达 85.0%~111.5%, 6 种工业染料平均回收率在 67.5%~115.8%之间, RSDs 在 1.5%~11.6%之间, 满足方法定量需求。该方法采用绿色环保 DES 进行前处理, 无毒无害且合成简单, 提取过程仅使用极少量的有机溶剂, 该方法具有简单易操作、选择性好、提取效率高且重现性好的优点。

### 参考文献

- [1] ISMAIL M, AKHTAR K, KHAN MI, *et al.* Pollution, toxicity and carcinogenicity of organic dyes and their catalytic bio-remediation [J]. *Curr Pharm Design*, 2019, 25(34): 3645-3663.
- [2] 陈林, 温家欣, 吴霞, 等. 改良 QuEChERS 技术结合液相色谱-串联质谱联用法同时快速检测辣椒制品中 14 种非法添加工业染料[J]. *食品科学*, 2017, 38(8): 296-302.  
CHEN L, WEN JX, WU X, *et al.* Rapid simultaneous determination of 14 adulterated industrial dyes in chilli products by a modified QuEChERS method coupled with LC-MS/MS [J]. *Food Sci*, 2017, 38(8): 296-302.
- [3] 周庆琼, 林子豪, 曾羲, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法同时测定调味品中 49 种工业染料[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(13): 3385-3395.  
ZHOU QQ, LIN ZH, ZENG X, *et al.* Simultaneous determination of 49 kinds of industrial dyes in condiments by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on QuEChERS [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(13): 3385-3395.
- [4] 范赛, 张楠, 刘平, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测熟肉制品中 10 种工业染料残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(13): 4177-4184.  
FAN S, ZHANG N, LIU P, *et al.* Determination of 10 industrial dyes in cooked meat products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(13): 4177-4184.
- [5] 刘军, 李道霞, 唐昌云, 等. 食品中 17 种工业染料的液质联用检测方法研究[J]. *食品科技*, 2021, 46(10): 298-305.

- LIU J, LI DX, TANG CY, *et al.* Determination of 17 industrial dyes in food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(10): 298-305.
- [6] SHISHOV A, BULATOV A, LOCATELLI M, *et al.* Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry: A review [J]. *Microchem J*, 2017, (135): 33-38.
- [7] PERNA FM, VITALE P, CAPRIATI V. Deep eutectic solvents and their applications as green solvents [J]. *Curr Opin Green Sust*, 2020, (21): 27-33.
- [8] SMITH EL, ABBOTT AP, RYDER KS. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications [J]. *Chem Rev*, 2014, 114(21): 11060-11082.
- [9] HANSEN BB, SPITTLE S, CHEN B, *et al.* Deep eutectic solvents: A review of fundamentals and applications [J]. *Chem Rev*, 2021, 121(3): 1232-1285.
- [10] TANG B, ZHANG H, ROW KH. Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(6): 1053-1064.
- [11] FLORINDO C, BRANCO LC, MARRUCHO IM. Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments [J]. *Fluid Phase Equilib*, 2017, (448): 135-142.
- [12] SARA S, HASSAN S. A green alternative QuEChERS developed based on green deep eutectic solvents coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of pesticides in tea samples [J]. *Food Chem*, 2022, 380: 132181.
- [13] ZHAO J, MENG Z, ZHAO Z, *et al.* Ultrasound-assisted deep eutectic solvent as green and efficient media combined with functionalized magnetic multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction to determine pesticide residues in food products [J]. *Food Chem*, 2020, 310: 125863.
- [14] POCHIVALOV A, CHERKASHINA K, SHISHOV A, *et al.* Microextraction of sulfonamides from milk samples based on hydrophobic deep eutectic solvent formation by pH adjusting [J]. *J Mol Liq*, 2021, (339): 116827.
- [15] 郑书展, 任彩霞, 张春艳, 等. 基于低共熔溶剂的分散液液微萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定马肉中非甾体抗炎药[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(5): 760-766.  
ZHENG SZ, REN CX, ZHANG CY, *et al.* Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in horse meat by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with deep eutectic solvent based on dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *J Instr Anal*, 2021, 40(5): 760-766.
- [16] 刘子雄, 谢国丹, 谭贵良, 等. DES-UPLC-MS/MS 法测定水产品中 4 种四环素类药物残留[J]. *食品与机械*, 2022, 38(2): 40-45.  
LIU ZX, XIE GD, TAN GN, *et al.* Rapid determination of drug residues of

- four kinds tetracyclines using DES-UPLC-MS/MS in aquatic products [J]. *Food Mach*, 2022, 38(2): 40–45.
- [17] 刘慧强, 陈美婷, 王伟达, 等. 低共熔溶剂萃取超高效液相色谱法检测调味油中酸性橙 II、碱性橙 21 和碱性橙 22 [J]. *分析实验室*, 2018, 37(8): 932–936.
- LIU HQ, CHEN MT, WANG WD, *et al.* Determination of acid orange II, alkaline orange 21 and alkaline orange 22 in flavoured oil by deep eutectic solvent extraction combined with ultra high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(8): 932–936.
- [18] 周佳, 刘子溱, 王丽君, 等. 低共熔溶剂-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定肉制品、水产品中 3 种非法添加工业染料 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(5): 1538–1544.
- ZHOU J, LIU ZZ, WANG LJ, *et al.* Determination of 3 kinds of illegally added industrial dyes in meat and aquatic products by hydrophobicity deep eutectic solvent-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(5): 1538–1544.
- [19] WANG W, DU Y, XIAO Z, *et al.* Determination of trace rhodamine B in chili oil by deep eutectic solvent extraction and an ultra high-performance liquid chromatograph equipped with a fluorescence detector [J]. *Anal Sci*, 2017, 33(6): 715–717.
- [20] DENG W, HUANG A, ZHENG Q, *et al.* A density-tunable liquid-phase microextraction system based on deep eutectic solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea, medicinal herbs and liquid foods [J]. *Food Chem*, 2021, (352): 129331.
- [21] 吴宏伟, 杨婷婷, 苗英昌, 等. 疏水性低共熔溶剂超声辅助联合高效液相色谱萃取测定环境水样中 3 种酚类污染物 [J]. *分析实验室*, 2022, 41(8): 934–939.
- WU HW, YANG TT, MIAO YC, *et al.* Determination of three phenolic pollutants in environmental water samples by high performance liquid chromatography coupled with ultrasonic-assisted extraction based on hydrophobic deep eutectic solvent [J]. *Chin J Anal Lab*, 2022, 41(8): 934–939.
- [22] 薛皓月, 刘海龙, 贾丽艳, 等. 低共熔溶剂分散液液微萃取-悬浮固化-高效液相色谱法测定水产品中 3 种内分泌干扰物的含量 [J]. *理化检验-化学分册*, 2022, 58(3): 279–284.
- XUE HY, LIU HL, JIA LY, *et al.* Determination of 3 endocrine disrupting chemicals in fishery products by HPLC with deep eutectic solvents dispersive liquid liquid microextraction - solidification of floating droplets [J]. *Phys Test Chem Anal (Chem Anal)*, 2022, 58(3): 279–284.
- [23] GÜRISOY N, SIRTBAŞI B, ŞİRŞEK S, *et al.* Optimization and application of ultrasound-assisted sugar based deep eutectic solvent dispersive liquid-liquid microextraction for the determination and extraction of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk samples [J]. *Microchem J*, 2022, (172): 106974.
- [24] 周韞璐, 吴友谊, 陈梦轩, 等. 基于高密度疏水性低共熔溶剂的涡旋辅助-分散液液微萃取检测黄酒中黄曲霉毒素 [J]. *分析实验室*, 2021, 40(9): 1004–1009.
- ZHOU YL, WU YY, CHEN MX, *et al.* High density hydrophobic deep eutectic solvent based vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of aflatoxins in rice wine [J]. *Chin J Ana Lab*, 2021, 40(9): 1004–1009.
- [25] 谢蔓莉, 肖昭竞, 余文琴, 等. 低共熔溶剂液-液微萃取/高效液相色谱法检测饮料和糖果中 10 种水溶性色素 [J]. *高等学校化学学报*, 2008, 29(11): 2142–2148.
- XIE ML, XIAO ZJ, YU WQ, *et al.* Determination of ten water-soluble pigments in drink and candy by deep eutectic solvent liquid-liquid microextraction/HPLC [J]. *Chem J Chin Univ*, 2008, 29(11): 2142–2148.
- [26] 张康迪, 刘伟. 基于低共熔溶剂的液相微萃取-高效液相色谱法测定大豆油中的 TBHQ [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(5): 32–36.
- ZHANG KD, LIU W. Deep eutectic solvent based solvent microextraction-HPLC method for determination of TBHQ in soybean oil [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2017, 38(5): 32–36.
- [27] KAUL MJ, MANDELLA V, DIETZ ML. Systematic evaluation of hydrophobic deep eutectic solvents as alternative media for the extraction of metal ions from aqueous solution [J]. *Talanta*, 2022, (243): 123373.
- [28] HANADA T, GOTO M. Synergistic deep eutectic solvents for lithium extraction [J]. *ACS Sustain Chem Eng*, 2021, 9(5): 2152–2160.
- [29] ZHU SQ, LIU DL, ZHU XY, *et al.* Extraction of illegal dyes from red chili peppers with cholinium-based deep eutectic solvents [J]. *J Anal Methods Chem*, 2017. DOI: org/10.1155/2017/2753752
- [30] 谭婷, 乔鑫, 万益群, 等. 低共熔溶剂——新型亲水作用色谱流动相改性剂 [J]. *色谱*, 2015, 33(9): 934–937.
- TAN T, QIAO X, WAN YQ, *et al.* Deep eutectic solvent: A new kind of mobile phase modifier for hydrophilic interaction liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(9): 934–937.
- [31] CAI T, QIU H. Application of deep eutectic solvents in chromatography: A review [J]. *TrAC-Trend Anal Chem*, 2019, (120): 115623.
- [32] 赖晓英, 贺稚非, 吴丽红. 辣椒的研究及开发现状 [J]. *中国调味品*, 2006, (3): 4–8, 13.
- LAI XY, HE ZF, WU LH. Situation of research and exploitation in capsicum [J]. *Chin Cond*, 2006, (3): 4–8, 13.

(责任编辑: 黄周梅 张晓寒)

## 作者简介



余文琴, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: kathy198813@126.com