

超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法快速测定热带水果饮料中的胭脂虫红

刘超烽^{1,2}, 林志藩^{1,2}, 周玉玲^{1,2*}

[1. 海南省食品检验检测中心, 海口 570314; 2. 国家市场监管重点实验室(热带果蔬质量与安全), 海口 570314]

摘要: **目的** 基于超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)建立测定热带水果饮料中胭脂虫红(以胭脂红酸计)的分析方法。**方法** 样品经盐酸超声提取、乙腈稀释、过膜净化, C₁₈ 色谱柱分离, 以乙腈和 0.3% 甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱分离, 采用串联三重四极杆质谱法对胭脂红酸进行检测和定量分析。**结果** 在 5~500 ng/mL 质量浓度范围内, 线性关系良好, 相关系数在 0.999 以上, 方法测定低限为 50 μg/kg, 检出限为 10 μg/kg; 火龙果、百香果、西瓜、莲雾、椰子饮料样品在低(1 mg/kg)、中(5 mg/kg)、高(25 mg/kg) 3 个浓度加标回收率实验的回收率范围为 82.20%~104.11%, 相对标准偏差为 1.47%~2.43% (n=6)。**结论** 该方法分析速度快、准确度高、重复性好, 适用于多种热带水果饮料中胭脂虫红含量的检测。

关键词: 胭脂虫红; 超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法; 热带水果; 饮料

Rapid determination of carmine cochineal in tropical fruit drinks by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Chao-Feng^{1,2}, LIN Zhi-Fan^{1,2}, ZHOU Yu-Ling^{1,2*}

(1. Hainan Institute for Food Control, Haikou 570314, China; 2. Key Laboratory of Tropical Fruits and Vegetables Quality and Safety for State Market Regulation, Haikou 570314, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of carmine cochineal (calculated by carminic acid) in tropical fruit drinks by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** After extracted by hydrochloric acid with ultrasound, purified by acetonitrile, and separated with membranes, the samples were separated on a C₁₈ column, using acetonitrile and 0.3% formic acid solution as the mobile phase, and detected by triple quadrupole mass spectrometry after gradient elution separation. **Results** Within the mass concentration range of 5–500 ng/mL, the linear relationship was good and the correlation coefficients were all above 0.999. The limit of quantitation were 50 μg/kg, the limit of detection were 10 μg/kg, the recoveries of dragon fruit, passion fruit, watermelon, lotus mist, coconut drink samples at low (1 mg/kg), medium (5 mg/kg) and high (25 mg/kg) ranged from 82.20% to 104.11%, and the relative standard deviations were 1.47% to 2.43% (n=6). **Conclusion** This method is suitable for the rapid determination of carmine cochineal in various tropical

基金项目: 国家市场监管重点试验室(热带果蔬质量与安全)(ZZ-2022021)

Fund: Supported by the Key Laboratory of Tropical Fruits and Vegetables Quality and Safety for State Market Regulation (ZZ-2022021)

*通信作者: 周玉玲, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 18689983973@189.com

*Corresponding author: ZHOU Yu-Ling, Master, Senior Engineer, Hainan Institute for Food Control, No.285, Nanhai Avenue, Xiuying District, Haikou 570314, China. E-mail: 18689983973@189.com

fruit drinks during to the advantages including fast analysis speed, high accuracy and good repeatability.

KEY WORDS: carmine cochineal; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; tropical fruit; drinks

0 引言

胭脂虫红是一种源自南美洲的古老天然染料,以胭脂虫雌成虫干体(*Dactylopius coccus* Costa)为原料制得,活性成分为胭脂红酸(图 1)。胭脂虫红具有强烈的色泽度、优异的色牢度、极强的稳定性和抗氧化性能,因此,其在纺织、食品、化妆品、医药等领域均有广泛的应用^[1-4]。

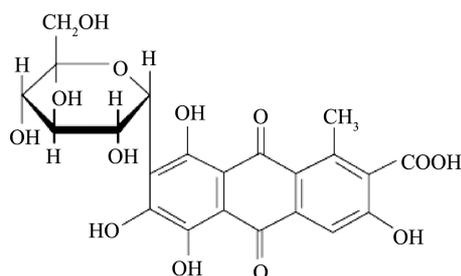


图 1 胭脂红酸结构图

Fig.1 Structure of carminic acid

GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》规定了胭脂虫红(以胭脂红酸计)用于乳制品、饮料、熟肉制品、果酱、果冻、配制酒、复核调味料等食品中的使用规范,其中,饮料类的最大使用量为 0.6 g/kg。在国际环境中,对胭脂虫红在食品中的使用要求各异:俄罗斯禁止添加使用;日本禁止在鲜肉中添加使用;美国允许在规定的范围中使用。各国的标准限量可能较少出于安全性考量,因为在长期的使用和研究过程中,胭脂虫红被证明是一种极具安全性的天然染料^[5-6],仅存在少许的急性过敏病例见诸报道^[7-8]。但不法商贩违规使用胭脂虫红掩盖食品本身的色泽及品质,使消费者无法分辨产品的好坏,最终破坏市场秩序,由此可见,胭脂虫红在食品中的限量要求可能更多出于市场监管的考量。目前,食品中的胭脂虫红在饮料中仅存在限值标准,但并未出台相关的检验检测标准,这使得对于胭脂虫红的实际使用情况出现监管真空。即便不法商贩超限量使用胭脂虫红,监管部门也难以及时获得精确有效的检验结果作为执法依据。

热带水果的全产业链培育是海南省热带特色高效农业近年的重点计划,以火龙果为例,鲜食火龙果为其主产业,火龙果饮料则是其重点衍生产业之一,其他衍生产业包括火龙果果酱、火龙果酵素、火龙果醋、火龙果酒、火龙果籽油、火龙果凝胶汁面膜等。染料添加情况的监测是市场监管必不可少的环节,而胭脂虫红作为常见的天然染料之一,亦是监管重点。但目前专门以热带水果饮料作为基质的胭脂虫红检

测方法并未见于报道。因此,建立一种针对热带水果饮料基质的胭脂虫红检测方法对于监管的实施重要的意义。

GB 1886.315—2021《食品安全国家标准 食品添加剂胭脂虫红及其铝色淀》在附录 A 中提供了胭脂虫红的相应检验方法,但此方法是针对作为食品添加剂的胭脂虫红及其铝色淀本身的定性定量方法,无法对复杂的食品基质中胭脂虫红的含量进行测定。而近期报道的食品中胭脂虫红检测的检验方法主要有高效液相色谱-紫外/二极管阵列检测法^[9-16]、化学荧光法^[17]、高效液相色谱-质谱法^[18]、电泳法^[19]、分光光度法结合建模方案^[20]、结合纳米材料、微芯片、新型传感器等多种电化学方法^[21-26]。上述方法可分为光学法、电化学法及质谱法 3 类,其中,紫外/二极管阵列、化学荧光法及分光光度法等光学法的选择性较差,因热带水果饮料基质本身含有色素,检测结果的准确性易受到干扰;电化学法中常需要使用自制的耗材,包括纳米材料、微芯片及新型传感器,此类自制耗材均为实验室产品,难以大规模应用,与目前迫切的监管需求不符。相较于光学法和电化学法,质谱法兼具高选择性及普适性,更符合监管需求。

胭脂虫红具有稳定的物理化学性质,微溶于热水,在酸性溶液中溶解良好^[1-4]。因而,目前主流的前处理方法是采取高温酸解将胭脂虫红从基质中提取出来,并结合固相萃取法进行净化,其中高温酸解常采用浓盐酸煮沸的方案,沸水容易造成溶液飞溅,存在潜在的操作危险并可能导致检测结果偏差^[13-16]。在净化步骤,固相萃取法操作简便、净化效率高,但采用的固相萃取小柱一般为进口产品,价格高昂,采用此类净化方案通常会增加检测成本。相较于高温酸解方法,超声酸解避免了高温可能导致的负面影响;相较于固相萃取的净化过程,采取高倍乙腈稀释净化的方案可以降低耗材成本,减少检测耗时。综上,本研究基于胭脂虫红的物理化学性质及样品基质的特性,拟采用超声酸解提取法作为前处理方法,基于超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)建立一种快速测定热带水果饮料中胭脂虫红含量的分析方法,为热带水果饮料中胭脂虫红的监管提供技术和方法支持,为海南热带果蔬安全监管提供方法参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

热带水果饮料购于当地小贩,由椰子、莲雾、百香果、火龙果、西瓜 5 种海南本地常见热带水果为主要材料分别制得。

甲酸(色谱纯, 美国 Waters 公司); 甲醇(质谱纯)、乙腈(色谱纯)(德国默克公司); 胭脂红酸(1000 $\mu\text{g/mL}$)、胭脂红酸(纯度 $\geq 98\%$)标准物质(德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司); 盐酸(优级纯, 广州化学试剂厂); 0.22 μm 聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)滤膜、0.22 μm 尼龙[nylon, 化学名为聚酰胺(polyamide, PA)]滤膜、0.22 μm 聚醚砜(polyethersulfone, PES)滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司); 实验用水为超纯水, 取自 Milli-Q 超纯水机。

1.2 仪器与设备

XS204 万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); Multi ReaX 涡旋振荡器(德国 HEIDOLPH 公司); SHZ-C 恒温振荡水浴锅(上海龙跃仪器设备有限公司); SK7200B 35kHz 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); 5804R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); Xcelvap 氮吹仪/全自动平行浓缩仪(美国 Horizon 公司); ACQUITY UPLC I-Class Plus/Xevo TQ-XS 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪、Waters ACQUITY-UPLC®BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); Milli-Q IQ7000 超纯水机(德国 Merck 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 胭脂红酸标准溶液的配制

准确量取适量胭脂红酸标准品溶液, 用初始流动相或空白样品提取液稀释成 0.005、0.010、0.020、0.050、0.100、0.200、0.500 $\mu\text{g/mL}$ 的胭脂红酸标准工作液, 供 UPLC-MS/MS 测定, 标准工作曲线溶液在使用前进行配制。

1.3.2 样品前处理

称取(1 $\text{g}\pm 0.01$ g)试样于 50 mL 具塞离心管中, 准确加入 20 mL 0.2 mol/L 盐酸溶液, 涡旋混合 2 min, 混匀后超声波提取 30 min, 将样品混合物在 4°C 以 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL 转移至 50 mL 容量瓶中, 加乙腈稀释至刻度线。取 5 mL 定容后的样液, 40°C 水浴氮气吹干, 加入 1 mL 90%乙腈+10%水溶液, 涡旋溶解残留物, 经 0.2 μm PTFE 微孔滤膜过滤, 供 UPLC-MS/MS 测定。

1.3.3 液相条件

色谱柱型号: Waters ACQUITY-UPLC®BEH C₁₈; 色谱柱温度: 35.0°C; 流动相组成: A 为 0.3%甲酸溶液, B 为乙腈, 洗脱程序见表 1。

表 1 参考洗脱程序

Table 1 Reference elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
起始	90	10
0.1	90	10
1.0	5	95
3.0	5	95
4.0	90	10
5.0	90	10

1.3.4 质谱条件

电离模式采取电喷雾离子源正离子(electrospray ionization, ESI+)模式, 并通过多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)进行质谱数据的扫描与采集, 考虑到胭脂红酸的稳定性较高, 采取 500°C 的常用离子源温度, 并采取配套的 550°C 作为脱溶剂的温度, 脱溶剂期间以氮气作为保护气, 同时, 经过调试, 获取的最佳毛细管电压为 3.5 kV, 胭脂虫红选择反应监测的母离子、子离子、锥孔电压和碰撞能量则见表 2, 碰撞室中的保护气为氦气。

表 2 胭脂红酸选择反应监测母离子、子离子、锥孔电压和碰撞能量

Table 2 Parent ion, daughter ion, cone voltage and collision energy of carminic acid selective reaction monitoring

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
胭脂红酸	493	493>355*	20	25
		493>373	20	15

注: *为定量离子。

1.3.5 计算公式

试样中胭脂红酸含量的计算按公式(1)计算:

$$X=c \times V \times D \times 1000 m \times 1000 \times 1000 \quad (1)$$

式中: X 为试样中胭脂红酸的含量(mg/kg); c 为试样制备液中测得的胭脂红酸质量浓度(ng/mL); D 为稀释倍数, 本实验中稀释倍数为 100 倍; V 为最终定容体积(mL); m 为试样质量(g); 1000 为换算系数。计算结果保留 3 位有效数字。

1.4 数据处理

采用 MassLynx V4.2.lnk 软件对液质采集的原始数据进行处理, 获取上机浓度、标准工作曲线等数据, 而后使用 WPS 2021 软件对数据进行分析, 获取回收率、相对标准偏差等结果。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 提取方法的选择

胭脂虫红的葡萄糖链为耐酸水解结构, 因此以往的提取条件多为使用高浓度盐酸在高温条件(100°C 水浴)下提取^[1-2,9-14], 本研究分别对超声辅助盐酸酸解提取与高温盐酸酸解提取进行考察, 在盐酸浓度分别为 0.2、0.5、2.0 mol/L 的条件下, 对低(1 mg/kg)、中(5 mg/kg)、高(25 mg/kg) 3 种添加浓度的样品进行超声及高温水浴各提取 30 min。经上机测定, 以胭脂红酸的定量离子相应峰面积为参考数据指标, 分析对比提取结果(图 2)。结果表明, 在超声辅助的条件下, 低浓度(0.2 mol/L)盐酸即可获得较好的提取效果(相对回收率>90%)。相较于常见的高温浓盐酸酸解, 超声辅助低浓度盐酸酸解具有以下优点: 避免高浓度盐酸高温煮沸

时可能导致的飞溅、爆炸风险,实验过程安全性更高;降低易制毒、腐蚀性危险化学品盐酸的使用量,实验过程更加绿色、环保;超声波辅助提取利用超声波独特的机械效应、空化效应和热效应^[27-29],可以使得植物细胞组织破壁或变形,使得目标成分提取更充分,在中药有效成分提取中已被广泛使用,在本研究中,这些效应可能是超声波辅助提取在低浓度盐酸的条件下,即可完成有效样品提取的原因。综上,本研究最终采用超声辅助低浓度盐酸酸解的提取方案。

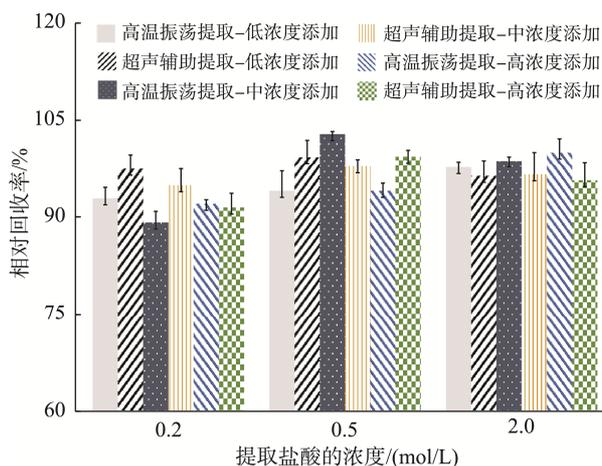


图 2 高温振荡提取与超声辅助提取在各浓度盐酸条件下对椰子基质中胭脂红酸的提取结果比较($n=6$)

Fig.2 Comparison of extraction results of cochineal acid in coconut matrix by high-temperature oscillation extraction and ultrasonic-assisted extraction under different concentrations of hydrochloric acid ($n=6$)

2.1.2 针式滤膜的选择

目前,UPLC-MS/MS 通常会在样液上机前使用微孔滤膜进行过滤,以防止大粒径杂质堵塞色谱柱及污染液质系统。微孔滤膜的代表性材质有:尼龙、PTFE 和 PES 等。本研究分别使用 3 种滤膜(规格均为 $0.22\ \mu\text{m}$)对胭脂红酸标准工作液($10\ \mu\text{g/mL}$)进行过滤,而后将滤液进行 UPLC-MS/MS 检测($n=6$),最终计算获得胭脂红酸在 3 种滤膜中的通过率,其中,尼龙滤膜的通过率为 67.6%,PES 滤膜的通过率为 85.4%,PTFE 滤膜的通过率为 96.3%。由此可见,3 种材质的滤膜均对胭脂红酸具有吸附作用,其中尼龙滤膜吸附效应最严重,PTFE 滤膜吸附作用最小。其中,尼龙材质在结构上是一类分子主链上含有重复酰胺基团(-NHCO-)的高聚化合物,由于其中含有具有强极性的酰胺基团,易于含 F、O 和 N 的物质形成氢键,亲水性良好^[30-31]。而胭脂红酸含有羧基(-COOH)和大量羟基(-OH)结构,容易与尼龙上的酰胺基团因相互作用力而结合,从而导致严重的吸附作用。而 PTFE 材质在结构上与聚乙烯(polyethylene, PE)类似,但 PE 中的氢原子完全被氟原子取代,整体结构为无支链的长链状,由于 C-F 键具有强键能,因而其具有优异

的化学稳定性,并表现出明显的化学惰性^[32],同时,由于 C-F 键结构高度对称,PTFE 有着较强的疏水性。由于这些性质,PTFE 材质的滤膜对含羧基的胭脂红酸的吸附明显较少,具体表现为优秀的目标化合物通过率。PES 分子结构中主要由醚基、醚基和次苯基组成,既无强极性基团,也无强疏水性及化学惰性,因此其对于胭脂红酸的亲和性介于尼龙材质与 PTFE 材质之间,胭脂红酸通过率一般。综合以上结果与分析,本研究最终选择采用 PTFE 材质的滤膜。

2.2 热带水果饮料的基质效应

在 UPLC-MS/MS 分析中,目标分析物的响应峰面积除了与其本身浓度高低直接相关外,还受到样液中其他组分的影响,这些其他组分对于目标化合物响应的影响被统称为基质效应。其中,基质效应分为增强效应和抑制效应。本研究考察了胭脂红酸在 5 种热带水果饮料中的基质效应,其中评价指标为空白基质提取液配制的工作溶液所制标准工作曲线和初始流动相配制的工作溶液所制标准工作曲线之间的斜率比,若比值等于 1,表明无基质效应,若比值大于 1,则表明基质存在增强效应,而当比值小于 1,则表明基质存在抑制效应,当比值处于 0.8~1.2 之间时为弱基质效应,当比值小于 0.5 或大于 1.5 时为强基质效应,当比值处于两者之间时为中等基质效应。由表 3 可知,5 种热带水果饮料基质的基质效应分别为:火龙果(0.95)、莲雾(0.93)、西瓜(0.93)、百香果(0.97)、椰子(0.95),表明基质存在较弱的抑制效应。故本研究的各类样品均可选择流动相配制的工作溶液所制标准工作曲线进行定量计算。

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系及范围

以初始流动相配制成的胭脂红酸标准工作溶液($5\sim 500\ \text{ng/mL}$)进行测定,并绘制标准工作曲线,其中横坐标为质量浓度($X, \text{ng/mL}$),纵坐标为胭脂红酸定量离子的响应峰面积 Y 绘制标准曲线,曲线方程为 $Y=1425.69X+1019.91$ ($r^2=0.9999$)。同样,对胭脂红酸以空白基质提取液配制的标准工作溶液进行同样操作,可获得空白基质标准工作曲线,结果见表 3。综合分析可知,在一定质量浓度范围内($5\sim 500\ \text{ng/mL}$),胭脂红酸在初始流动相及空白基质中的线性关系均十分良好,其中相关系数均可达到 0.999 以上,因此以线性方程对样品中的胭脂红酸进行定量是准确、可靠的。

2.3.2 检出限和测定低限

GB 27404—2008《试验室质量控制规范食品理化检测》附录 F 对方法测定低限提出了相关的要求,本方法根据该标准方法并结合国家标准对胭脂红酸限值的要求,进行上机测试后计算得到本方法的测定低限为 $50\ \mu\text{g/kg}$,经计算验证,该方法符合国家标准要求,适用于热带水果饮料中

胭脂虫红的检测。按照信号峰 3 倍信噪比($S/N=3$)的原则, 经梯度稀释得出检出限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$, 均远低于 GB 2760—2014 的限值范围。

表 3 胭脂虫红空白基质标准工作曲线方程
Table 3 Standard working curve equation of carminic acid in blank matrix

基质种类	线性方程	相关系数(r^2)
火龙果	$Y=1350.03X+2758.79$	0.9995
百香果	$Y=1320.99X+1970.61$	0.9993
西瓜	$Y=1331.49X+2169.63$	0.9993
莲雾	$Y=1375.91X+2059.11$	0.9991
椰子	$Y=1350.82X+2181.60$	0.9997

2.3.3 加标回收率及精密度

本方法灵敏度较高, 测定低限为 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$, 但考虑到胭脂虫红的国家标准限值和实际使用情况往往偏高, 本方法设置了以下 3 个加标浓度, 分别为 1、5、25 mg/kg , 通过于火龙果、百香果、西瓜、莲雾、椰子饮料空白基质样品中加入适量的胭脂虫红标准溶液, 即可获得相应的加标样品。结果显示, 5 种热带水果饮料基质的综合回收率范围为 82.20%~104.11% ($n=6$), 相对标准偏差范围为 1.47%~2.43% ($n=6$), 由此可知, 本方法具有良好的回收率以及精密度, 是一个能够满足预设需求的检验方法。

2.4 实际样品测试

GB 2760—2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》中规定了饮料中胭脂虫红作为染色剂的使用范围和最大使用量, 本研究在热带水果饮料样品上选择了火龙果、百香果、西瓜、莲雾、椰子 5 种具有代表性的样品, 并以本研究为标准进行了定量定性检测, 结果显示, 随机采购的热带水果饮料样品中均未检出胭脂虫红的有效成分。

3 讨论与结论

本研究基于 UPLC-MS/MS 建立了一种热带水果饮料中胭脂虫红天然染料的快速检测方法, 针对热带水果饮料中的胭脂虫红, 仅需 5 min 内即可完成上机检测, 方法回收率为 82.20%~104.11%, 相对标准偏差为 1.47%~2.43%, 检出限 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$, 测定低限 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$, 本方法速度快、准确度高、精密度好、灵敏性强。由于本研究采取的 UPLC-MS/MS 灵敏性较强, 而胭脂虫红在实际使用中的质量浓度一般较高, 可能导致实际检测中出现样品浓度超过标准曲线上限的情况, 遇到此类情况需要对样品进行进一步的稀释, 再按本方法进行测定。相较于以往研究中对食品中的胭脂虫红检测所常采取高效液相色谱-紫外可见分光光度计联用方案, 此类方案抗干扰性弱, 当样品中存在与胭脂虫红结构相近的化合物时, 易导致错误结果, 而本研究采取

的 UPLC-MS/MS 具有高选择、抗干扰能力强; 相较于常见的光学法及电化学法具有更快的检验速度、更高的灵敏度、更强的选择性及更广泛的普适性; 同时, 高温浓盐酸酸解是以往研究中大多数研究人员采用的方法, 本研究通过采取超声辅助低浓度盐酸酸解, 提高了提取方法的安全性, 大大降低了方法的盐酸消耗, 从而使得方法更加绿色环保。在实际应用中, 本方法能够满足国家标准中对于饮料类的胭脂虫红限值需求, 可以作为热带水果饮料中胭脂虫红日常大规模动态监测的检验检测依据, 为弥补市场监督空白提供了技术支撑。在未来, 本研究将着力于在此次研究的基础上进行多方向扩展, 分别是使得方法对于更多食品基质能够兼容, 以及在检验天然染料胭脂虫红的同时能够检测更多种天然及人工合成的染料, 例如易与胭脂虫红混淆的胭脂虫红染料, 最终达到降低检验成本、提高检测效率的目的。

参考文献

- [1] ZASADA-KŁODZIŃSKA D, BASIUL E, BUSZEWSKI B, *et al.* Analysis of natural dyes from historical objects by high performance liquid chromatography and electromigration techniques [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2021, 51(5): 411-444.
- [2] OZAN DEVEOGLU. A review on cochineal (*Dactylopius coccus* Costa) dye [J]. *Res J Recent Sci*, 2020, 9(3): 37-43
- [3] SERRANO A, SOUSA MM, HALLETT J, *et al.* Analysis of natural red dyes (cochineal) in textiles of historical importance using HPLC and multivariate data analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401(2): 735-743.
- [4] 汤沈扬, 陈梦瑶, 肖花美, 等. 胭脂虫及胭脂虫红色素的应用研究进展 [J]. *应用昆虫学报*, 2019, 56(5): 969-981.
TANG SY, CHEN MY, XIAO HM, *et al.* Progress in research on the commercial use of cochineal insects and cochineal dye [J]. *Chin J Appl Entomol*, 2019, 56(5): 969-981.
- [5] BAMPIDIS V, BASTOS ML, CHRISTENSEN H, *et al.* EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP) [J]. *EFSA J*, 2022, 20(4): e07268.
- [6] MORI H, IWATA H, TANAKA T, *et al.* Carcinogenicity study of cochineal in B6C3F1 mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 1991, 29(9): 585-588.
- [7] TAKEO N, NAKAMURA M, NAKAYAMA S, *et al.* Cochineal dye-induced immediate allergy: Review of Japanese cases and proposed new diagnostic chart [J]. *Allergol Int*, 2018, 67(4): 496-505.
- [8] OSUMI M, YAMAGUCHI M, SUGIMOTO N, *et al.* Allergy to carminic acid: *In vitro* evidence of involvement of protein-binding hapten [J]. *Asia Pac Allergy* 2019, 9(1): e2.
- [9] 李双, 王永健, 杨燕, 等. 高效液相色谱法快速测定食品中胭脂虫红(胭脂虫红)[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(24): 9467-9474.
LI S, WANG YJ, YANG Y, *et al.* Rapid determination of carminic acid (cochineal red) in foods by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(24): 9467-9474.
- [10] 董超先, 张晨曦, 彭晓羽, 等. 检测食品中胭脂虫红的处理方法及波长选择的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(10): 95-99.
DONG CX, ZHANG CX, PENG XY, *et al.* Study on pre-treatment methods and wavelength selection of determination for carminic cochineal in foods [J]. *China Food Addit.*, 2020, 31(10): 95-99.
- [11] 董超先, 张晨曦, 邹幼成, 等. 高效液相色谱法测定多类食品中胭脂虫

- 红的含量[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(10): 136–140.
- DONG CX, ZHANG CX, ZOU YC, *et al.* Determination of carmine cochineal in foods by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Addit*, 2019, 30(10): 136–140.
- [12] NISHIZAKI Y, SATO-MASUMOTO N, YOKOTA A, *et al.* HPLC/PDA determination of carminic acid and 4-aminocarminic acid using relative molar sensitivities with respect to caffeine [J]. *Food Addit Contam A*, 2018, 35(5): 838–847.
- [13] 华从伶, 王志聪, 贾茹. 食品添加剂胭脂红与胭脂虫红的比较研究[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(1): 69–73
- HUA CL, WANG ZC, JIA R. The Comparison research of food additives between ponceau 4R and carmines [J]. *Food Ferment Technol*, 2017, 53(1): 69–73
- [14] 张艳娇. 高效液相色谱法测定食品中胭脂虫红的含量[J]. 食品安全导刊, 2018, (18): 101.
- ZHANG YJ. Determination of cochineal red content in food by high performance liquid chromatography [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2018, (18): 101.
- [15] 魏鲜娥, 蔡伟江, 杨祖伟, 等. 高效液相色谱法测定软糖中的胭脂红酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(5): 1631–1634.
- WEI XER, CAI WJ, YANG ZW, *et al.* Determination of carminic acid in soft sweets by HPLC [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(5): 1631–1634.
- [16] 梁占丽, 顾华珍, 李金滔, 等. 轨道阱高分辨质谱法快速筛查饮料中的杨梅红, 胭脂虫红和紫草红[J]. 山东化工, 2022, 51(4): 124–126.
- LIANG ZL, GU HZ, LI JM, *et al.* Rapid screening of myrica red, carmine, and gromwell red in drink by orbital high resolution mass spectrometry [J]. *Shandong Chem Ind*, 2022, 51(4): 124–126.
- [17] MOKHTARI A, KEYVANFARD M, EMAMI I. Chemiluminescence determination of carminic acid in foodstuffs and human plasma using Ru(phen)₃²⁺-acidic Ce(IV) system [J]. *Food Anal Method*, 2015, 8: 2457–2464.
- [18] XIAN Y, WU Y, GUO X, *et al.* Simultaneous determination of 11 restricted dyes in cosmetics by ultra high-performance liquid chromatography/ tandem mass spectrometry [J]. *Anal Method-UK*, 2013, 5(8): 1965–1974.
- [19] MAGUREGUI MI, ALONSO RM, BARANDIARAN M, *et al.* Micellar electrokinetic chromatography method for the determination of several natural red dyestuff and lake pigments used in art work [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1154(1–2): 429–436.
- [20] WEI LJ, YANG YH, SUN DY. Rapid detection of carmine in black tea with spectrophotometry coupled predictive modelling [J]. *Food Chem*, 2020, 329: 1–6.
- [21] KAVIEVA L, ZIYATDINOVA G. Sensitive voltammetric quantification of carminic acid in candies using selenium dioxide nanoparticles based electrode [J]. *Food Chem*, 2022, 386: 132851.
- [22] YILMAZ UT, ERGUN F, YILMAZ H. Determination of the food dye carmine in milk and candy products by differential pulse polarography [J]. *J Food Drug Anal*, 2014, 22(3): 329–335.
- [23] ALIZADEH M, DEMIR E, AYDOĞDU N, *et al.* Recent advantages in electrochemical monitoring for the analysis of amarant and carminic acid food colors [J]. *Food Chem Toxicol*, 2022, 163: 112929.
- [24] MOHAMMADI Z, JAFARI SM. Detection of food spoilage and adulteration by novel nanomaterial-based sensors [J]. *Adv Colloid Interf Sci*, 2020, 286: 102297.
- [25] MASÁR M, HRADSKÍ J, VARGOVÁ E, *et al.* Determination of carminic acid in foodstuffs and pharmaceuticals by microchip electrophoresis with photometric detection [J]. *Separations*, 2020, 7(4): 72.
- [26] AKKAPINYO C, SUBANNAJUI K, POO-ARPORN Y, *et al.* Disposable electrochemical sensor for food colorants detection by reduced graphene oxide and methionine film modified screen printed carbon electrode [J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2312.
- [27] 丁心悦, 时东方, 辛树权, 等. 软枣猕猴桃多糖提取以及生物活性的研究进展[J]. 长春师范大学学报, 2022, 41(12): 85–90.
- DING X, SHI DF, XIN SQ, *et al.* Research progress on the extraction and biological activity of polysaccharides from soft jujube kiwifruit [J]. *J Changchun Norm Univ*, 2022, 41(12): 85–90.
- [28] 魏瑞霖, 朱晨, 张晋森, 等. 超声波-微波协同提取川明参多糖及其体外抗氧化活性[J]. 食品科技, 2022, 47(10): 204–210.
- WEI RL, ZHU C, ZHANG JS, *et al.* Ultrasonic-microwave synergistic extraction of chuanminshen violaceum polysaccharide and its antioxidant activity *in vitro* [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 47(10): 204–210
- [29] 刘焕云, 王艳哲, 姚楚轩. 石榴皮多酚超声波-微波协同提取技术[J]. 中国调味品, 2021, 46(2): 149–151.
- LIU HY, WANG YZ, YAO CX. Ultrasonic-microwave assisted extraction of polyphenols from pomegranate peel [J]. *Chin Cond*, 2021, 46(2): 149–151.
- [30] 王梓冰, 甘春莉, 浦益琼, 等. 微孔滤膜对3种常用中药指标成分HPLC测定结果的影响[J]. 中草药, 2022, 53(1): 71–77.
- WANG ZB, GAN CL, PU YQ, *et al.* Influences of millipore filters on the determinations of three traditional Chinese medicine indicative components detected by HPLC [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2022, 53(1): 71–77.
- [31] 董文洪, 杨海, 令狐文生. 尼龙材料在吸附分离方面的应用研究[J]. 化工新型材料, 2017, 45(8): 13–17.
- DONG WH, YANG H, LINGHU WS. Application of nylon in adsorption and filtration field [J]. *New Chem Mater*, 2017, 45(8): 13–17.
- [32] 黎鹏, 王霞, 侯克锁, 等. 原材料对聚四氟乙烯中空纤维膜性能的影响[J]. 材料科学与工程学报, 2022, 40(2): 219–224.
- LI P, WANG X, HOU KS, *et al.* The effect of raw materials on the performance of polytetrafluoroethylene hollow fiber membranes [J]. *J Mater Sci Eng*, 2022, 40(2): 219–224.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介

刘超烽, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1071147506@qq.com

周玉玲, 硕士, 副高级轻工工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 18689983973@189.com