

生物胺前处理技术及分析方法研究进展

张元, 刘佳, 闫加庆, 刘敏, 周海燕, 李国辉*

(国家癌症中心, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘要: 生物胺(biogenic amine, BA)作为一种具有生物活性、含氨基的低分子量化合物, 主要由氨基酸进行脱氨基作用而产生。该类物质广泛存在于天然及加工后的食品中, 适量摄入生物胺能够对机体的生理功能产生积极作用, 但一旦摄入过量会导致不适, 严重时甚至会危及生命。因此, 建立灵敏、快速、高通量的生物胺前处理和检测方法与人体健康息息相关。目前, 常用于样品中生物胺检测的前处理技术包括液液萃取、固相萃取和基质辅助固相分散萃取等, 常用的检测方法有液相色谱-质谱法、液相色谱法、气相色谱法、薄层色谱法、毛细管电泳法和生物传感器法等。本文对生物胺的种类与生理作用、前处理方法与检测方法的最新进展进行了综述, 以期能够为食品及生物制品中生物胺含量的检测提供参考。

关键词: 生物胺; 前处理; 检测; 高效液相色谱-质谱法

Research progress on pretreatment techniques and determination methods of biogenic amines

ZHANG Yuan, LIU Jia, YAN Jia-Qing, LIU Min, ZHOU Hai-Yan, LI Guo-Hui*

(National Cancer Center, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

ABSTRACT: Biogenic amines (BA) are a kind of low molecular weight bioactive amino compounds, and widely exist in organisms. Biogenic amines are also widely found in natural and processed foods. Moderate intake of biogenic amines can have a positive effect on the body's physiological functions. But the excessive intake of biogenic amines will cause discomfort in the human body, and in extreme cases the attack could be fatal. Therefore, the establishment of sensitive, rapid, and high-throughput detection methods of biogenic amines is closely related to human health. The pretreatment techniques used in detection of biogenic amines include liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and matrix assisted solid-phase extraction, and the determination methods include liquid chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography, gas chromatography, thin layer chromatography, capillary electrophoresis and biosensor method. In this paper, the types and functions of biogenic amines, pretreatment techniques and detection methods were reviewed. Thus it provided a solution for determination of biogenic amines in food and biological samples.

KEY WORDS: biogenic amines; pretreatment; detection; high performance liquid chromatography-mass spectrometry

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-001)

Fund: Supported by CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (CIFMS) (2016-I2M-1-001)

*通讯作者: 李国辉, 主任药师, 教授, 主要研究方向为药事管理及临床药学。E-mail: lgh0603@126.com

*Corresponding author: LI Guo-hui, Chief Pharmacist, Professor, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, No.17, Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. E-mail: lgh0603@126.com

1 引 言

生物胺是一类具有生物活性、含氨基的低分子量有机物的总称, 广泛存在于自然界的生物体中。机体中的生物胺同时也是生物碱、核苷酸、蛋白质和荷尔蒙等物质合成的前体物质。人体摄入适量的生物胺能够对机体生理功能产生积极作用, 如促进生长发育、增强新陈代谢、增强清除自由基与免疫力的能力等, 但是生物胺摄入过量后会引引起偏头痛、呕吐、腹泻、痉挛等不良反应, 其潜在的毒性已经引起了相关检测部门的重视。鉴于此, 建立灵敏、快速的检测食品、药品和生物制品中生物胺的方法, 与人体健康息息相关。本文对生物胺的限量标准、样品前处理技术与分析手段等最新进展进行综述。

2 生物胺简介及限量标准。

生物胺类物质根据其构成可分为单胺与多胺 2 类, 单胺类包括酪胺(tyramine)、尸胺(cadaverine)、色胺(tryptamine)、腐胺(putrescine)、苯乙胺(phenylethylamine)、组胺(histamine)等, 多胺类包括精胺(spermine)与亚精胺(spermidine)2 种。而按照结构能够分为 3 类: (1)脂肪族胺: 包括尸胺、腐胺、精胺与亚精胺; (2)芳香胺类: 包括酪胺与苯乙胺等; (3)杂环胺类包括组胺与色胺等。作为人体必不可少的生物活性成分, 生物胺在机体内发挥重要的生物调节作用^[1], 不同生物胺具有不同的生理活性, 适量的生物胺摄取能够对机

体产生积极作用, 详见表 1。

尽管适量生物胺能对机体产生积极作用, 但一旦摄入过量, 机体会产生中毒现象, 如头痛、呼吸紊乱、血压不稳等^[2], 严重者甚至会危及生命。生物胺中毒性最大的为组胺, 一旦摄入过量会导致头痛、血压不稳、肠胃不适以及神经毒性^[3]。尸胺, 尽管与组胺相比毒性较小, 但其能通过抑制组胺与酪胺代谢酶的活性而增加体内组胺与酪胺的含量, 继而增强组胺生物毒性作用^[4]。此外, 精胺、亚精胺、腐胺和尸胺能够发生亚硝酸盐反应而生成强致癌物质^[2]。由于生物胺过量摄入会引起人体的诸多不适, 因此对其摄入量的控制需要制定严格的规定。但截至目前, 国内外在食品中生物胺残留限量方面还有较大的空缺。有研究者提出可以通过限制总胺量来实现对人体内生物胺摄入量的控制^[1], 但这一想法并未得到广泛的重视, 其原因在于采用总胺量来判定种类众多且毒性不一的各种生物胺毒性是不合理的^[5]。

考虑到生物胺的毒性受多种因素的影响, 且不同人群对于生物胺的耐受性也不尽相同, 制定灵敏、快速、准确的适合食品及生物制品中生物胺含量的定量方法是及其迫切的。最新研究发现: 口服 8~40 mg 组胺时会产生轻微中毒症状, 40~100 mg 时会产生中毒迹象, 而超过 100 mg 会产生严重中毒迹象^[6]; 酪胺在口服超过 100 mg 时会产生偏头痛, 而 1080 mg 是其严重中毒阈^[7]。超过 3 mg 的苯乙胺口服便将会导致患者产生偏头痛。鉴于此, 尽管不同生物胺限量制定较为困难, 部分国家仍尝试为各种生物胺制定限量标准^[1], 具体见表 2。

表 1 生物胺的生理作用

Table 1 Physiological functions of biogenic amines

类别	生物作用
色胺	调节血压
苯乙胺	调节去甲肾上腺素水平、增加血压
酪胺	抗氧化、增加心率、升高血压、升糖作用
组胺	局部免疫调节、肠道调节、控制炎症反应、神经递质功能、调节白细胞数量
精胺	肠道调节
精胺、亚精胺、腐胺、尸胺	调节 DNA、RNA 和蛋白质生成及生物膜稳定性

表 2 不同国家及地区生物胺的限量标准

Table 2 Limits of biogenic amines in different countries

国家和地区	生物胺类型	食品中的限量(mg/kg)	水产品中的限量(mg/kg)	葡萄酒中的限量(mg/L)
中国	组胺	—	鲑鱼:1000; 其他:300	—
欧盟	组胺/酪胺	组胺 100/酪胺 80	组胺 100	—
美国	组胺	—	50	—
瑞士	组胺	—	—	10
澳大利亚	组胺	—	200	10
法国	组胺	—	—	8
德国	组胺	—	—	2
荷兰	组胺	—	—	3.5

*注: —代表暂无限量规定。

3 生物胺检测的前处理方法

在生物胺含量检测中,为了使样品中待测组分处于适当的状态,以适应分析方法的需求,必须对生物胺样品进行前处理。合适的样品前处理方法,不仅要具备较高的对待测物的回收率,同时还能降低杂质的提取率,继而降低基质干扰,提高灵敏度。近年来,伴随着前处理技术的快速发展和自动化技术的提高,前处理技术正朝着快速、便捷、自动化、回收率高的方向发展。很多新型生物胺前处理方法相继被开发出来,常见有液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)、液液微萃取(liquid-liquid microextraction, LLME)、固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)和基质固相分散萃取(matrix solid-phase dispersion, MSPD)等。

3.1 液液萃取及液液微萃取

根据待测物在互不相溶的溶剂中溶解度不同,将所需要的组分提取出来的操作过程称之为液液萃取^[8,9]。如 De Figueiredo 等^[8]建立了利用三氯乙酸为萃取剂的液液萃取技术对鸡蛋中的生物胺进行净化,该法将鸡蛋的蛋黄与蛋清进行分离后先后加入乙酸铵与三氯乙酸进行样品的液液萃取,并利用高效液相色谱-紫外检测器(high performance liquid chromatography-ultraviolet detector, HPLC-UV)进行样品的检测,最终得到的方法的提取回收率高达 80%~110%,很好地满足了生物胺的检测需求。但由于传统的液液萃取技术操作复杂、溶剂消耗量大、选择性差且易发生乳化现象等缺点,部分学者对其进行了改进,如 Jain 等^[9]建立了利用盐析辅助液液萃取技术对果汁和酒精饮料中的生物胺含量进行测定的高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测方法,其在水和乙腈作为萃取剂的传统液液萃取技术上,加入硫酸铵进行盐析反应,减少了萃取剂的浪费同时降低了杂质含量,最终建立的方法的提取回收率达到了 94.5%,能够满足生物胺的检测需求。

近年来,基于“液液萃取”基本原理,“液液微萃取”技术因其高效、简便的优势在生物胺检测领域逐渐发挥作用。Plotka 等^[10]建立了一种利用液液微萃取技术结合气相色谱-质谱技术测定葡萄酒样品中的 13 种生物胺的检测方法,其利用甲醇为分散溶剂、氯仿为萃取剂、异丙醇为衍生化剂并通过吡啶和盐酸消除副产物,最终采用气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectroscopy, GC-MS)进行检测,该法提取回收率高达 77%~105%,检测限低至 4.1 $\mu\text{g/L}$,能够满足生物胺类样品的检测需求。Jia 等^[11]利用液液微萃取技术对酒精饮料中的生物胺含量进行测定,并利用 HPLC-UV 进行检测。其将酒精饮料稀释后,加入甲醇与月桂醇作为分散剂与溶剂,经过涡旋离心后最终在冰浴中进行上清液吸取,随后上机检测,该法提取回收率高达 80%~120%,适用于各类酒种(如白酒、红酒、米酒、黄酒

或其他酒精饮料等)中生物胺的检测。

液液萃取法经过近年来的进步与样品前处理技术的成熟,已慢慢克服其溶剂消耗量大、操作方法复杂的缺点,在生物胺分析领域取得越来越广泛的应用^[6]。

3.2 固相萃取及固相微萃取

固相萃取法是利用高效、高选择性的固体吸附剂将液体中的目标化合物吸附,从而使目标化合物与样品体系中的杂质分离,然后再利用洗脱液洗脱或者加热等方法使目标化合物与固相吸附剂分离,从而达到分离与富集样品的目的^[6,12]。

杨姗姗等^[6]建立了同时测定奶酪中 15 种生物胺的固相萃取-毛细管高效液相色谱方法,该法采用 ZorbaxSB-C₁₈(35 mm×0.5 mm, 5 μm)固相萃取柱对样品在线净化,随后上机检测,该法对全部生物胺类回收率高达 79.6%~118.7%,灵敏度达到 0.05~0.25 mg/L 水平,说明该方法较好地实现了对奶酪样品的净化。Magnes 等^[12]利用在线固相萃取技术对生物样品中的精胺、亚精胺、尸胺等生物胺进行了萃取,并利用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)技术进行检测,样品过 C₁₈ 固相萃取小柱,用乙腈洗脱,经过超滤管过滤后进样分析,同样获得了较高的提取回收率和灵敏度,符合生物胺检测的要求,且该方法操作简单、自动化程度高。

近年来,伴随着新型材料不断开发出来,基于的固相萃取技术原理的“分子印迹固相萃取”技术应运而生。分子印迹固相萃取(molecularly imprinted solid phase extraction, MISPE)是将具有高度专一性、高度选择性的分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)作为萃取填料,能够选择性浓缩痕量待测物,相比于传统的固相萃取技术大大提高了分离效率和分析准确性^[13]。Luliński 等^[13]采用分子印迹固相萃取技术实现了对复杂样品中酪胺的提取净化,该方法选用(4-甲氧基苯基)乙胺印迹聚合物作为吸附材料,利用 85%的甲醇水及 30%的醋酸铵甲醇溶液进行洗脱,最终该方法的提取回收率达到了 95%,完全满足生物胺类样品的检测需求。

但考虑到固相萃取溶剂消耗量大、费时长等缺点,很多学者基于固相萃取基本原理,开发出固相微萃取技术。Yang 等^[14]建立了测定尿液中单胺的固相微萃取-HPLC 分析方法,其利用硼酸亲和整体柱和 N,N'-亚甲基双丙烯酰胺的不锈钢毛细管柱对尿液中的生物胺进行提取净化并利用 HPLC 进行检测,最终得到的提取回收率达到了 81%~105.5%,该方法灵敏、准确且选择性高,适用于人体生物胺类的检测。

固相萃取法无需挑选互不相溶的溶剂,且处理过程不会产生乳化且高效节约的特点使它常常用来代替液液萃取等纯化手段。

3.3 基质辅助固相分散萃取

基质辅助固相分散萃取是由美国 Louisiana 州立大学的 Steven 教授等于 1989 年基于固相萃取的基础上研制出的可以同时分散固体、半固体的新型 SPE 技术^[15]。MSPD 技术的基本原理是将涂有 C₁₈ 等各种聚合物单体的固相萃取材料与动物组织样品一起研磨, 之后得到半干状态的混合物并作为填料装柱, 之后用不同的溶剂淋洗柱子, 从而将各种待测物淋洗下来。Self 等^[15]利用 MSPD 技术建立了检测沙丁鱼罐头中的尸胺、腐胺、组胺等生物胺类的高效液相色谱质谱法 (high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS), 该法向样品中加入活化的 Bondesil CN-U 吸附剂, 与样品一起处理后填柱洗脱, 随后采用甲酸铵缓冲液洗脱, 最终的检测结果表明该方法能够对 20~100 μg/mL 内的生物胺类化合物进行准确测定。Calbiani 等^[16]利用 MSPD 建立干酪中生物胺类样品的检测方法, 其利用 CN-键合硅胶作为吸附剂, 甲醇水的混合溶液作为洗脱溶剂, 样品经过萃取后进入 HPLC-MS 进行检测分析, 该法提取回收率为 98%~110%, 能够满足干酪中生物胺类测定的要求。

基质辅助固相分散萃取由于其简便高效的优点已在生物胺类样品以及药品食品检测中得到广泛应用。

4 生物胺检测方法

色谱法由于其快速、高效的优点而在生物胺的检测中应用最为广泛, 最为常用的色谱技术为 HPLC、GC、薄层色谱 (thin-layer chromatography, TLC) 以及离子色谱法 (ion chromatography, IC) 等, 此外毛细管电泳法 (capillary electrophoresis, CE)、生物传感器法等方法也有应用于生物胺检测的报道。

4.1 HPLC 法

作为生物胺最常用的检测方法, HPLC 具有分析速度快、灵敏度高、精确度高以及通量高等优势。由于 HPLC 多连接紫外或荧光检测器, 而作为小分子有机物的生物胺并没有荧光或紫外发色基团, 因此常需要经过衍生化后才能对其含量进行准确测量。常用的衍生化剂有丹磺酰氯 (dansyl chloride, DNS-Cl)、苯甲酰氯 (benzoyl chloride)、二硝基苯甲酰氯 (dinitro benzoyl chloride, DABS-Cl)、邻苯二醛 (*o*-phthalaldehyde, OPA) 等。其中 Dns-Cl 为生物胺 HPLC 检测中应用最为广泛的一类衍生化剂, 同时也是我国国标规定的生物胺检测法中的衍生化处理方式^[17]。董伟峰等^[18]在 -20 °C 避光保存 DNS-Cl 衍生物 6 个月后发现其成分无太大变化, 而 6 个月则色胺与精胺逐渐分解。胡佳伟等^[19]同样利用 DNS-Cl 衍化法建立了测定水产品中的生物胺的测定方法, 且方法的快速准确、灵敏度高、重复性好。Tuberoso 等^[20]利用 DNS-Cl 作为柱前衍生剂, 高效液相色谱

串联荧光检测来测定 2 种葡萄酒中生物胺的分析方法, 其有效地将葡萄酒中的生物胺种类、含量以及其他含氮化合物进行了分析检测。

虽然 DNS-Cl 衍生化法的应用已十分广泛, 且稳定性较高, 但是其操作手段与操作时间较为耗时耗力。在其他的衍生化试剂上, OPA 具有反应迅速、耗时短、灵敏度高等优点, 但是相对来说其衍生物稳定性差且仅能与初级的生物胺进行结合反应。DABS-Cl 衍生物的稳定性在衍生试剂中最好, 在 -20 °C 中其衍生化样品能够保存 1 年以上。刘振锋等^[21]采用苯甲酰氯为衍生试剂、庚胺为内标物质, 建立了对中国传统的酵豆制品中 10 种生物胺含量测定的 HPLC 方法, 结果表明在 20 min 内酵豆制品中的生物胺均得到了有效分离, 且该方法灵敏度高并且重现性好。但使用苯甲酰氯衍生化法须在操作过程中除去多于试剂, 操作手段较为繁琐。

目前, 虽然利用衍生化法加高效液相色谱法在生物胺中的检测应用较为广泛, 但由于其过程较为复杂, 且易产生副产物等缺点而干扰生物胺的检测。因此, 基于 HPLC 而无需衍生化前处理的检测技术也逐步开发出来, 如 HPLC-MS/MS 等。在 HPLC 串接的各种检测器中, 串联质谱由于灵敏度和选择性高于其他检测器, 目前被认为是效果最好的定量手段^[21,22]。质谱技术不仅可以对结构相似而无法色谱分离的生物胺进行定量, 同时还无需衍生化前处理。Sirocchi 等^[22]建立了利用 HPLC-MS/MS 的检测方法对肉制品中的 10 种未衍生化的生物胺进行了检测, 该法定量限低至 0.008~0.5 mg/L。Magnez 等^[12]也建立了同时测定生物样品中的精胺、亚精胺、尸胺等生物胺的 HPLC-MS/MS 方法, 该法定量限也低至 0.1~5 ng/mL。伴随着质谱的发展, 除传统的三重四级杆质谱外, 很多新型的质谱仪也被采用于生物胺的测定。Liu 等^[23]建立了同时测定人血清中 5 种多胺的 HPLC-飞行时间质谱仪方法, 该法不仅定性能力准确, 定量限低至 0.02~0.1 ng/mL。

综上, 由于 HPLC-MS/MS 测定生物胺时具有操作简便、灵敏度高且准确性好的优势, 今后将会发挥越来越大的作用。

4.2 GC 法

GC 具有分离效率高、分析速度快、选择性好等优点, 但由于采用该法测定生物胺时同样需要衍生化处理、费时费力, 且部分生物胺在高温下不稳定^[24]。近年来, 在生物胺检测领域, 采用气相色谱对生物胺类进行检测的相关文献较少。Awa 等^[24]建立了对肉类、蔬菜及奶酪中的腐胺与尸胺检测的 GC 方法, 该法首先采用三氟乙酰丙酮对生物胺进行衍生化, 随后利用固相微萃取技术进行净化, 最后上机检测, 该方法灵敏度较高, 检测限低至 20~350 ng/mL, 且相较于液相的衍生处理也更为简单。Huang 等^[25]利用碱性甲醇对鱼产品中的组胺进行萃取后, 直接进入气相色谱

进行分析,该方法无需对样品进行衍生化处理,且方法的耗时低于 20 min,检测限低至 5 $\mu\text{g/g}$,能够较好的满足检测需求。

但相较于高效液相色谱方法,气相色谱法对于难以气化的或在高温下不稳定的待测物“束手无策”,同时其在样品的前处理阶段也较为耗时,相比液相色谱无显著优势,这些原因导致了气相色谱法在生物胺检测中的应用范围较窄。

4.3 TLC 法

对于部分生物胺类物质,TLC法是一种较适合的检测方法,该法不仅操作简便,而且费用低廉。Romano等^[26]利用薄层色谱法和光密度法测定葡萄酒中的4种生物胺,该法对组胺、酪胺、尸胺和腐胺的检测限在1~20 mg/L之间,能满足日常对酒类生物胺分析的检测需求。Garcia等^[27]通过TLC法对酒和葡萄汁的生物胺进行了分析检测,表明薄层色谱不仅可用于酒种生物胺的检测,对葡萄汁等饮料样品同样适用。

相较于其他的检测方法,TLC法具有设备简单、操作简便、分离速度快、价格低廉等优势,能够有效降低测定生物胺的检测成本,但该方法的重现性和精密度较差,相比现代分析仪器,灵敏度也是一大缺陷。

4.4 IC 法

IC法是一种适用于阴阳离子分析,并同时可以测定多种成分的高效液相色谱法。生物胺由于其有机阳离子特性而非常适合采用离子色谱法进行分析。离子色谱法无需衍生处理,并且具有良好的检测精密度与准确性,同时大大缩短了分析时间也避免了衍生化试剂带来的干扰。如Favaro等^[28]建立了利用离子色谱测定新鲜肉和加工肉中生物胺类物质的分析方法,该方法利用不同浓度的甲磺酸水溶液对样品进行梯度洗脱,之后加入强碱使体系获得碱性条件,再利用电化学法对其进行分析测定,最终得到的方法的重现性好,准确度高。Palermo等^[29]建立了利用离子色谱测定奶酪、酒、橄榄及香肠中生物胺类物质的检测方法,其利用弱离子交换柱与甲磺酸进行梯度洗脱,最终结果显示该法具有良好的检测限与分离效率。离子色谱法具有简便快速、灵敏度高、分离效率高、检测选择性好等优点而在各类检测中得到广泛应用,目前离子色谱检测法已经在生物胺,有机酸以及糖类检测中取得了广泛的应用。

4.5 CE 法

CE法^[30]是一种在高压直流电场的作用下,将毛细管作为离子通道的新型液相检测技术,并且其对生物胺的检测不需衍生化处理,可以直接检测。Li等^[30]建立了测定烈酒中精胺、组胺、腐胺、尸胺等生物胺的毛细管电泳法分析方法,实验结果表明了毛细管电泳法对生物胺的测定具有良好的重现性与灵敏度,并且不需要衍生化处理与富集技

术,实验操作更为简洁方便。Cortacero等^[31]建立了利用毛细管电泳法测定啤酒中10种生物胺含量的检测方法,该方法对酒类中生物胺的检测具有良好的检测效果且相对简单,已在啤酒中生物胺的检测中得到广泛引用。但由于毛细管电泳法对样品的净化要求较高,所以目前其只适用于酒类等纯净度较高的基质中生物胺类的检测。

4.6 生物传感器法

生物传感器法^[32]是目前较为新颖的一种分析方法,其利用酶、抗原、抗体等物质作为生物探针来进行生物胺的特异性反应,通过转化器后检测信号的变化来对生物胺进行定性与定量分析。目前较为常用的生物探针为胺氧化酶,通过测定生物胺在胺氧化酶脱胺后得到的过氧化氢的量而测定生物胺的含量。Fiddes等^[32]通过顺丁烯为感测材料利用生物传感器对腐败食物中的5种生物胺成功进行了检测,其原理是通过生物胺与顺丁烯二酸酐的反应,通过电化学的变化来测定了其中生物胺的含量。Alonso-Lomillo等^[33]建立了生物传感器法测定凤尾鱼中总生物胺含量的测定,其将单胺氧化酶、二胺氧化酶等分别固定在经过芳基重氮盐修饰过的丝网印刷碳电极的表面,利用单胺氧化酶与生物胺的特异性反应来对样品中的生物胺进行检测,其结果符合生物胺样品的检测需求。Perez等^[34]建立了利用生物传感器法测定沙丁鱼、凤尾鱼等水产品中生物胺类物质的方法,其主要通过将聚砜/碳纳米管/二茂铁修饰的丝网印刷碳电极(screen printing carbon electrode, SPCE)固定于二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)/辣根过氧化物(horseradish peroxidase, HRP)电极表面,从而制得测定组胺的生物传感器,以对生物胺进行检测。

生物传感器在用于生物胺的检测时,具有较高的灵敏度、较强的特异性、快捷简便的特点,但由于酶来源与酶活性的不稳定性以及生物传感器的高昂成本而使其在实际应用时会受到应用限制。

5 结论与展望

微生物的无处不在的现状,会使生物胺在各种食品及生物体中都广泛存在,人体在摄入适量的生物胺时能够对机体产生积极作用,但同时摄入量过多的情况下,会使人体产生不良反应。本文对各类生物胺前处理与检测手段进行综述,固相萃取作为一种新型前处理技术,操作简单且净化程度高,拥有广泛的应用前景,今后必将取得越来越广泛的应用。而对于分析技术,由于生物胺样品的独特性,HPLC-MS/MS将会在生物胺的检测中发挥更大作用,希望能有更多的研究者参与到生物胺的研究中。

参考文献

- [1] 王光强,俞剑葵,胡健,等.食品中生物胺的研究进展[J].食品科学,2016,37(1):269-278.

- Wang GQ, Yu JS, Hu J, *et al.* Progress in research on biogenic amines in foods [J]. *Food Sci*, 2016, 37(1): 269–278.
- [2] 孙霞, 杨勇, 巩洋, 等. 发酵香肠中生物胺控制技术的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(11): 373–377, 388.
- Sun X, Yang Y, Gong Y, *et al.* Research progress in the control of the biogenic amine in fermented sausage [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 36(11): 373–377, 388.
- [3] 戴海斌. 组胺及其受体对 NMDA 受体介导的神经元毒性作用机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- Dai HB. Study on the mechanism of histamine and its receptor on NMDA receptor-mediated neuron toxicity [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [4] 冯婷婷, 方芳, 杨娟, 等. 食品生物制造过程中生物胺的形成与消除[J]. *食品科学*, 2013, 34(19): 360–366.
- Feng TT, Fang F, Yang J, *et al.* Formation and removal of biogenic amines in food bioprocessing [J]. *Food Sci*, 2013, 34(19): 360–366.
- [5] Falus A, Grosman N, Darvas Z. Histamine : biology and medical aspects [M]. Karger: Spring Med Publish, 2004.
- [6] 杨姗姗, 杨亚楠, 李雪霖, 等. 在线固相萃取-毛细管高效液相色谱联用测定奶酪中的生物胺[J]. *分析化学*, 2016, 44(3): 396–402.
- Yang SS, Yang YN, Li XL, *et al.* Determination of biogenic amines in cheese by on-line solid phase extraction coupled with capillary high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, 44(3): 396–402.
- [7] 郭雯, 郑冬梅, 李晓东, 等. RP-HPLC 柱后衍生法检测干酪中 6 种生物胺[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(5): 213–218.
- Guo W, Zheng DM, Li XD, *et al.* Simultaneous determination of six biogenic amines in cheese by RP-HPLC coupled to on-line post column derivatization [J]. *J Chin Inst Food Sci Tech*, 2015, 15(5): 213–218.
- [8] De Figueiredo TC, De Assis DC, Menezes LD, *et al.* HPLC-UV method validation for the identification and quantification of bioactive amines in commercial eggs [J]. *Talanta*, 2015, 142: 240–245.
- [9] Jain A, Gupta M, Verma KK. Salting-out assisted liquid-liquid extraction for the determination of biogenic amines in fruit juices and alcoholic beverages after derivatization with 1-naphthylisothiocyanate and high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1422: 60–72.
- [10] Płotka-Wasyłka J, Simeonov V, Namieśnik J. An in situ derivatization dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas-chromatography - mass spectrometry for determining biogenic amines in home-made fermented alcoholic drinks [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1453: 10–8.
- [11] Jia S, Ryu Y, Kwon SW, *et al.* An in situ benzylation-dispersive liquid-liquid microextraction method based on solidification of floating organic droplets for determination of biogenic amines by liquid chromatography-ultraviolet analysis [J]. *J Chromatogr A*. 2013, 1282: 1–10.
- [12] Magnes C, Fauland A, Gander E, *et al.* Polyamines in biological samples: rapid and robust quantification by solid-phase extraction online-coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1331: 44–51.
- [13] Luliński P, Sobiech M, Zolek T, *et al.* A separation of tyramine on a 2-(4-methoxyphenyl) ethylamine imprinted polymer: an answer from theoretical and experimental studies [J]. *Talanta*, 2014, 129: 155–64.
- [14] Yang X, Hu Y, Li G. Online micro-solid-phase extraction based on boronate affinity monolithic column coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of monoamine neurotransmitters in human urine [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1342: 37–43.
- [15] Self RL, Wu WH, Marks HS. Simultaneous quantification of eight biogenic amine compounds in tuna by matrix solid-phase dispersion followed by HPLC-orbitrap mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*. 2011, 59(11): 5906–13.
- [16] Calbiani F, Careri M, Elviri L, *et al.* Rapid assay for analyzing biogenic amines in cheese: matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*. 2005, 53(10): 3779–83.
- [17] GB/T 5009.208—2008 食品中生物胺含量的测定[S].
GB/T 5009.208—2008 Determination of the content of biogenic amines in food [S].
- [18] 董伟峰, 李宪臻, 林维宣. 丹磺酰氯作为生物胺柱前衍生试剂衍生化条件的研究[J]. *大连轻工业学院学报*, 2005, 24(2): 115–118.
- Dong WF, Li XZ, Lin WX. Study on derivatising condition of biogenic amines with dansyl chloride as pre-column derivatising agent [J]. *J Dalian Inst Light Ind*, 2005, 24(2): 115–118.
- [19] 胡家伟, 高榕, 曹敏杰, 等. 水产食品中组胺的丹磺酰氯柱前衍生反相高效液相色谱测定方法的建立及应用[J]. *食品科学*, 2014, 35(8): 283–288.
- Hu JW, Gao R, Cao MJ, *et al.* Establishment and application of dansyl chloride precolumn derivatization RP-HPLC for determination of histamine in aquatic products [J]. *Food Sci*, 2014, 35(8): 283–288.
- [20] Tuberoso C I, Congiu F, Serreli G, *et al.* Determination of dansylated amino acids and biogenic amines in cannonau and vermentino wines by HPLC-FLD [J]. *Food Chem*, 2015, 175: 29–35
- [21] 刘振锋, 魏云潇, 张进杰, 等. 高效液相色谱法检测中国传统发酵豆制品中的生物胺[J]. *中国食品学报*, 2010, 10(4): 253–259.
- Liu ZF, Wei YX, Zhang JJ, *et al.* Determination of biogenic amines in Chinese traditional fermented tofu by a high performance liquid chromatography method [J]. *J Chin Inst Food Sci Tech*, 2010, 10(4): 253–259.
- [22] Sirocchi V, Caprioli G, Ricciutielli M, *et al.* Simultaneous determination of ten underivatized biogenic amines in meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) [J]. *J Mass Spectrom*, 2014, 49(9): 819–825.
- [23] Liu R, Bi K, Jia Y, *et al.* Determination of polyamines in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with Q-TOF mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2012, 47(10): 1341–1346.
- [24] Awan MA, Fleet I, Thomas CLP. Determination of biogenic diamines with a vaporization derivatisation approach using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2008, 111(2): 462–468.
- [25] Huang JD, Xing XR, Zhang XM, *et al.* A molecularly imprinted electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube-gold nanoparticle composites and chitosan for the detection of tyramine [J]. *Food Res Int*, 2011, 44(1): 276–281
- [26] Romano A, Klebanowski H, La Guerche S, *et al.* Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry [J].

- Food Chem, 2012, 135(3): 1392–1396.
- [27] Garcia-Moruno E, Cersosimo M, Costantini A, *et al.* Production of biogenic amine by lactic acid bacteria, screening by PCR, thin layer chromatography, and high performance liquid chromatography of strains isolated from wine and must [J]. J Food Prot, 2006, 69(2): 391–396
- [28] Favaro G, Pastore P, Saccani G, *et al.* Determination of biogenic amines in fresh and processed meat by ion chromatography and in tegrated pulsed amperometric detection on Au electrode [J]. Food Chem, 2007, 105(4): 1652–1658
- [29] Palermo C, Muscarella M, Nardiello D, *et al.* A multiresidual method based on ion-exchange chromatography with conductivity detection for the determination of biogenic amines in food and beverages [J]. Anal Bioanal Chem, 2013, 405(2/3): 1015–1023
- [30] Li WL, Pan YL, Liu Y, *et al.* Simultaneous determination of eight typical biogenic amines by CZE with capacitively coupled contactless conductivity detection [J]. Chromatographia, 2014, 77(3/4): 287–292.
- [31] Cortacero-Ramírez S, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, *et al.* Determination of biogenic amines in beers and brewing –process samples by capillary electrophoresis coupled to laser-induced fluorescence detection [J]. Food Chem, 2007, 100(1): 383–389.
- [32] Fiddes L K, Chang J, Yan N. Electrochemical detection of biogenic amines during food spoilage using an integrated sensing RFID tag [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2014, 202: 1298–1304.
- [33] Alonso-Lomillo MA, Domínguez-Renedo O, Matos P, *et al.* Disposable biosensors for determination of biogenic amines [J]. Anal Chim Acta, 2010, 665(1): 26–31.
- [34] Perez S, Bartroli J, Fabregas E. Amperometric biosensor for the determination of histamine in fish samples [J]. Food Chem, 2013, 141(4): 4066–4072.

(责任编辑: 姜姗)

作者简介



张元, 硕士, 药师, 主要研究方向: 药物分析及临床药学。

E-mail: 13840149878@163.com



李国辉, 主任药师, 教授, 研究方向: 药事管理及临床药学。

E-mail: lgh0603@126.com