

水产品中生物胺的检测与控制技术研究进展

刘红¹, 李传勇², 曾志杰², 孙乐常¹, 高海东¹, 曹敏杰¹, 刘光明^{1*}

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 厦门 361021; 2. 厦门市农产品质量安全检验检测中心, 厦门 361009)

摘要: 生物胺是一类低分子量含氮有机化合物, 具有脂肪族、芳香族、杂环结构, 广泛存在食品尤其是富含蛋白质的水产品中, 大多由微生物来源的氨基酸脱羧酶对氨基酸脱羧后形成。水产品风味独特、营养丰富, 备受消费者喜爱, 生物胺的存在不仅会影响水产品的品质, 还会危害人类的健康, 引起过敏反应。根据生物胺的组成可分为单胺、二胺和多胺, 根据其挥发难易程度可分为挥发性胺、非挥发性胺, 常见的生物胺有组胺、酪胺、腐胺、尸胺、色胺、苯乙胺、三甲胺、二甲胺等。本文重点介绍了水产品中常见生物胺的色谱、波谱、生物检测方法, 以及物理、化学、生物控制技术的最新进展, 分析了水产品中生物胺研究的发展趋势, 以期为水产品的品质监测与安全控制提供理论基础。

关键词: 水产品; 生物胺; 检测方法; 安全控制; 过敏性

Research progress on the determination methods and control technology of biogenic amines in seafood

LIU Hong¹, LI Chuan-Yong², ZENG Zhi-Jie², SUN Le-Chang¹, GAO Hai-Dong¹,
CAO Min-Jie¹, LIU Guang-Ming^{1*}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Xiamen Agriculture Product Quality and Safety Testing Center, Xiamen 361009, China)

ABSTRACT: Biogenic amines (BAs) are low molecular weight organic nitrogenous compounds bases with aliphatic, aromatic or heterocyclic structures. BAs can be found in many foods especially in seafoods which are full of protein and amino acid and are mainly produced by microbial decarboxylation of amino acids. Seafood is very popular among people due to its unique flavor and rich nutrition. However, the existence of BAs will not only decrease its quality value, but also have a bad effect on human health such as allergic reactions. BAs can be divided into monamine, diamine and polyamine according to their composition and can be classified as volatile amines, non-volatile amines according to the degree of difficulty of their volatile. The common BAs in seafood mainly include histamine, tyramine, putrescine, putrescine, cadaverine, tryptamine, 2-phenylethylamine, spermidine, spermine, trimethylamine, dimethylamine. In this paper, the type of BAs in seafood, the latest research of the determination methods of chromatographic, spectral and biological and the control technology of physical, chemical and biological of BAs in seafood were introduced, and their development prospect was put forward. Thus this paper would provide a certain amount of scientific theory foundation for the quality and safety of seafood.

KEY WORDS: seafood; biogenic amines; detection method; safety control; allergic activity

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171660)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31171660)

*通讯作者: 刘光明, 教授, 主要研究方向为水产品加工与安全。E-mail: gmlu@jmu.edu.cn

*Corresponding author: LIU Guang-Ming, Professor, College of Food and Biological Engineering, Jimei University, No.43, Yindou Road, Jimei District, Xiamen 361021, China. E-mail: gmlu@jmu.edu.cn

1 引 言

水产品的变质腐败主要由于受到了大量微生物污染, 在微生物所产生的酶作用下形成相应的生物胺^[1]。随着生物胺的大量产生, 中毒事件接踵而来, 尤其是组胺中毒, 我国特别是沿海地区如广东、浙江、山东等多地均爆发过组胺中毒事件。由此可见, 生物胺的存在, 不仅会降低水产品的品质, 还会影响人类身体健康、生命安全, 如引起过敏反应, 出现呼吸困难、皮疹、呕吐, 引发高血压等病症。不仅如此, 生物胺的大量生成, 还会对水产品造成巨大的经济损失^[2]。且生物胺一旦形成, 很难被破坏, 即使高温处理也很难将其去除^[3], 因此, 如何对其含量进行准确测定与有效控制是摆在水产品行业的关键问题。本文主要介绍了水产品中常见的几种生物胺, 并综述了生物胺的检测方法及其控制技术, 以期为水产品的安全控制提供理论基础。

2 水产品中生物胺的来源和种类

水产品中生物胺由于微生物所产生的酶作用所致,

大多生物胺是由自身的前体氨基酸被微生物所产生的氨基酸脱羧酶作用生成相应的生物胺, 而三甲胺(TMA)及二甲胺(DMA)是由于体内自身含有能调节渗透压的氧化三甲胺被兼生细菌的脱氢酶或自身氧化三甲胺脱甲基酶作用生成。

生物胺的种类根据其化学结构可分为脂肪族胺、芳香族胺、杂环胺; 根据其组成可分为单胺、二胺和多胺; 根据其挥发难易程度可分为挥发性胺、非挥发性胺。常见的生物胺有组胺、酪胺、腐胺、尸胺、色胺、苯乙胺、TMA、DMA 等。

适量的生物胺可以调节生理机能, 摄入过量就会引起呼吸、血压等生理机能紊乱, 过敏反应、大脑出血, 甚至死亡^[4]。生物胺之间毒性有相加及协同作用, 如腐胺和尸胺可增强组胺的毒性, 腐胺、尸胺等二胺与亚硝酸盐反应生成亚硝胺等杂环致癌物质, 生物胺总量超过 1000 mg/kg 会严重危害人类健康。水产品常见生物胺的种类和毒理学数据见表 1。

表 1 水产品中常见生物胺
Table 1 Common biogenic amines in seafood

胺类物质	胺类种类	挥发性 (沸点/°C)	前体物质	毒理学数据 ^[5]
组胺 Histamine	杂环胺 单胺	非挥发性胺 (167)	组氨酸	LD ₅₀ : 220 mg/kg(小鼠经口); 630 mg/kg(大鼠静脉); 轻微中毒: 8~40 mg; 中等中毒: 40 mg; 严重中毒: 100 mg; 超过 50 mg: 过敏性中毒。
酪胺 Tyramine	芳香族胺 单胺	非挥发性胺 (175~181)	酪氨酸	LD ₅₀ : 229 mg/kg(小鼠静脉); 口服 6 mg: 4 h 内严重中毒
腐胺(丁二胺) Putrescine	脂肪族胺 二胺	非挥发性胺 (158~160)	鸟氨酸	LD ₅₀ : 1750 mg/kg(小鼠腹腔); 460 mg/kg(大鼠经口)
尸胺(戊二胺) Cadaverine	脂肪族胺 二胺	非挥发性胺 (178~180)	赖氨酸	LD ₅₀ : 1600 mg/kg(小鼠经口); 1250 mg/kg(大鼠经皮)
色胺 Tryptamine	杂环胺 二胺	非挥发性胺 (137)	色氨酸	LD ₅₀ : 100 mg/kg(小鼠静脉); 1250 mg/kg(小鼠经皮)
苯乙胺 2-Phenylethylamine	芳香族胺 单胺	非挥发性胺 (194~202)	苯丙氨酸	LD ₅₀ : 175 mg/kg(小鼠腹腔); 100 mg/kg(小鼠静脉) 口服 3 mg: 偏头痛; 口服 6 mg: 严重中毒
亚精胺 Spermidine	脂肪族胺 多胺	非挥发性胺 (128~130)	精氨酸	LD ₅₀ : 78 mg/kg(小鼠静脉); 450 mg/kg(小鼠经皮)
精胺 Spermine	脂肪族胺 多胺	非挥发性胺 (150)	精氨酸	LD ₅₀ : 56 mg/kg(小鼠静脉); 65 mg/kg(大鼠静脉); 33 mg/kg(大鼠腹腔)
三甲胺 Trimethylamine	脂肪族胺 单胺	挥发性胺 (2.9)	氧化三甲胺	LD ₅₀ : 1236 mg/kg(雌), 797 mg/kg(雄)(大鼠经口); 908 mg/kg(雌), 704 mg/kg(雄)(小鼠经口)
二甲胺 Dimethylamine	脂肪族胺 单胺	挥发性胺 (167)	三甲胺 氧化三甲胺	LD ₅₀ : 316 mg/kg(小鼠经口); 698 mg/kg(大鼠经口)

3 水产品中生物胺的检测方法

生物胺的含量反映了水产品的鲜度品质及其安全性,对其进行检测尤其重要。Muscarella等^[6]从抽样的311份生鲜鱼与鱼制品中检测发现42%的样品的组胺小于2.5 mg/kg,6%的样品大于100 mg/kg,因此不同水产品之间的生物胺含量差异较大,在进行生物胺的检测时选择一种精密度好、灵敏度高、实用性强的检测技术已成为监控水产品品质与安全的重要前提。下面主要对生物胺检测方法中的色谱法、波谱法、生物法进行概述。

3.1 色谱法

色谱法是利用不同生物胺与固定相和流动相之间的作用力(分配、吸附、离子交换等)的差别进行多次平衡,使各物质达到相互分离后,结合各类检测器进行的分析,为生物胺的常用检测方法。

3.1.1 反相高效液相色谱法

反相高效液相色谱(reversed-phase high-performance liquid chromatography, RP-HPLC)广泛应用于水产品中非挥发性生物胺的定量分析,灵敏度较高,能够实现大批量样品的检测。由于生物胺无紫外吸收,也无荧光效应,一般需对其进行衍生化处理。紫外检测器(UV)为常用的检测器,灵敏度较高, Mazzucco等^[7]对蛤蚌等食品中组胺及总生物胺量经丹磺酰氯柱前衍生后进行RP-HPLC-UV分析,检测限(LOD)为1.50 mg/kg。荧光检测器(FLD)具有更高的灵敏度和选择性, Donthuan等^[8]对于发酵鱼制品中组胺、色胺、尸胺、酪胺、亚精胺经氯甲酸9-芴甲酯衍生后进行RP-HPLC-FLD分析, LOD为0.02~0.5 μg/kg。Li等^[9]对鱼、虾等中的生物胺采用改进的RP-HPLC-FLD方法,经乙基吡啶酮磺酰氯荧光标记后无需衍生处理直接进行分析, LOD为0.27~0.69 μg/L。二极管阵列检测器(DAD)作为新型生物胺衍生检测器逐渐被广泛运用, Gong等^[10]将鱼露、虾酱等产品经丹磺酰氯柱前衍生后,进行RP-HPLC分离,利用DAD分析了腐胺、尸胺、组胺、苯乙胺、酪胺、精胺、亚精胺、色胺8种生物胺,结果显示,鱼露中均检测到8种生物胺,虾酱中生物胺的含量较低。但HPLC存在衍生操作繁琐、耗时较长等不足,并且衍生产物不稳定会影响其重现性。

3.1.2 气相色谱法

气相色谱(gas chromatography, GC)常用于分析挥发性胺,对于非挥发胺不易气化,常衍生为易挥发的衍生物进行测定。Li等^[11]利用介质阻挡放电分子发射光谱仪作为GC检测器,分析了鲤鱼制品中TMA、DMA等挥发性胺。Slemr等^[12]对样品进行三氟乙酰衍生化处理上样GC测定了组胺、腐胺和尸胺。而Hwang等^[13]将鱼和鱼制品于碱性甲醇提取后不经衍生化处理直接对组胺进行GC分离测定, LOD为5 mg/kg。

3.1.3 离子色谱法

离子色谱法(ion chromatography, IC)无需衍生,是水产品中生物胺较为常用的分析方法,但水产品中会包含一些常见的阳离子,会对结果产生一定的干扰。Carmen等^[14]以弱阳离子交换柱分离,电导检测器(ELCD)测定了金枪鱼罐头、凤尾鱼等样品中的TMA、三乙胺、腐胺、尸胺、组胺、胍基丁胺、亚精胺和精胺8种生物胺, LOD为23~65 μg/kg。Jastrzbska等^[15]利用IC-ELCD同时测定不同食品中组胺、酪胺、苯乙胺、尸胺、腐胺,整个检测分析过程简单、快速、重现性好。

3.1.4 薄层色谱法

薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)无需昂贵的分析仪器,在色谱法中是一种操作简便、成本低廉的分析方法,但其精度与重现性较差。Tao等^[16]建立了鱼与鱼制品中组胺TLC快速测定,利用数字化计算与图像处理软件对斑点的强度进行定量分析, LOD为20 mg/kg。Lapa-Gumaraes等^[17]对鳕鱼和鲑鱼体内9种生物胺经TLC分离后进行丹磺酰胺衍生根据荧光强度进行量化分析,色胺、酪胺、组胺和β-苯乙胺的LOD为5 mg/kg,其余为10 mg/kg。

3.1.5 毛细管电泳法

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)是一种包含电泳、色谱及其交叉的新型液相分离技术,具有分析范围广,分离速度快、进样量少,灵敏度高、成本低、无污染等优点,但其重现性和稳定性较差。An等^[18]将CE与电化学发光(ECL)联用,以三联吡啶钌[Ru(bpy)₃²⁺]为电化学发光体系,建立了牡蛎中亚精胺、腐胺、组胺、酪胺和苯乙胺的快速分析方法, LOD分别为0.6、0.92、8.4、12、96 μg/kg。Tim等^[19]利用CE结合间接UV对鱼肉中的TMA、DMA等进行同时测定, LOD为0.04 mmol/L。

3.2 波谱法

波谱法主要是基于生物胺具有分子光谱特征、质量谱特征、原子光谱特性,建立的比色法、质谱法、核磁共振法。

3.2.1 比色法

比色法是利用生物胺在一定条件下会呈现视觉上的颜色差别进行生物胺的定量分析, Patange等^[20]建立了基于咪唑环与β-苯基重氮磺酸盐的相互作用的比色定量法,用于测定鲭科鱼中的组胺含量, LOD为15 mg/kg,检测范围在10~600 mg/kg之间,该方法快速简便,成本低,整个过程10 min内即可完成,但常受到其他生物胺的干扰, LOD较高,精确度低。Leng等^[21]提出了基于N-乙酰基转移酶(aaNAT)的快速检测生物胺的新型比色法,利用aaNAT能使生物胺乙酰化从而显示特殊的光谱特征,该法还具有良好的灵敏度和选择性等优势。

3.2.2 质谱法

质谱法(mass spectrometry, MS)是利用生物胺离子化

后的所具有的质荷比特性进行定性定量分析, 一般会结合色谱仪器, 利用色谱的高效分离和自身的高灵敏度进行生物胺的分析, 无需衍生, 堪称一种高效率、高可靠性分析技术。Romero-González 等^[22]利用超高效液相色谱串联质谱(UHPLC-MS)对鳀鱼中腐胺、尸胺、组胺、酪胺、TMA 等生物胺进行分析, 除 TMA 的 LOD 为 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其余生物胺为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Randy 等^[23]对冻金枪鱼和金枪鱼罐头中的胍基丁胺、尸胺、组胺、苯乙胺、腐胺、色胺、酪胺等进行了静电轨道阱质谱(Orbitrap-MS)分析。Mazzotti 等^[24]利用基质辅助激光解吸离子化质谱(MALDI-MS)对鱼等食品中的 8 种生物胺进行定性分析, 利用低能量碰撞解离-串联质谱(CID-MS/MS)在多反应监测模式(MRM)下进行定量分析, LOD 为 9.5~20.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Chan 等^[25]利用顶空固相微萃取技术结合气质联用(HS-SPME-GC-MS)分析了鱼肉中挥发性胺, 其中 DMA、TMA 的 LOD 分别为 0.10 mg/kg、0.15 mg/kg。

3.2.3 核磁共振法

核磁共振法(nuclear magnetic resonance, NMR)是利用生物胺的微观粒子吸收电磁波后在不同能级上的跃迁特性进行定性定量分析, NMR 同样具有 HPLC 的灵敏度、精确度、准确度及分析速度, 还可定性鉴定与定量分析同步完成。Shumilina 等^[26]利用了高分辨的 ^1H - ^{13}C 异核单量子相干谱(HSQC)的核磁共振技术测定了大西洋鲑鱼片分别贮藏在 0 $^{\circ}\text{C}$ 和 4 $^{\circ}\text{C}$ 的腐胺、酪胺、尸胺、TMA 等物质以评价鱼的品质。Heude 等^[27]利用了 ^1H 高分辨魔角旋转核磁共振(HR-MAS-NMR)对海鲷、鲈鱼、鲑鱼和红鲱鱼的 K 值与 TAM 两个新鲜度指标进行评价。该法操作简便, 样品用量少, 但所需仪器设备相当昂贵, 实用性受到了强大的限制。

3.3 生物法

生物法主要是利用生物敏感物质(如酶、蛋白质、抗原、抗体等)的特性建立的方法。主要包括生物传感器法、酶联免疫法等。

3.3.1 生物传感器法

生物传感器法一般是固定在石墨、琼脂糖、醋酸纤维素膜上的胺氧化酶催化相应的生化反应, 从而转变成可定量的物理、化学信号实现对生物胺的分析。Henao-Escobar 等^[28]建立了组胺脱氢酶与腐胺氧化酶双酶生物传感器对组胺与腐胺进行分析, 组胺的 LOD 可达(8.1 \pm 0.7) $\mu\text{mol}/\text{L}$, 腐胺可达(10 \pm 0.6) $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。Draisci 等^[29]建立了二胺氧化酶生物传感器检测腌制的凤尾鱼在腐败过程中所产生的腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺、色胺 7 种生物胺, LOD 可达 0.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。该法具有快速、方便、可在线检测等优点, 但是酶电极的稳定性以及酶的固定化技术还不完善, 重现性较差, 且所需的酶需从自然界筛选, 存在难保成本高, 不能反复使用的缺陷。

3.3.2 酶联免疫法

酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay,

ELISA)是基于抗原与抗体的特异性反应进行的定性定量分析方法, 特异性强, 灵敏度高, LOD 低, 样品前处理简单快速, 成本较低。Simon-Sarkadi 等^[30]利用 ELISA 测定鱼等食品中组胺的含量, LOD 为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Muscarella 等^[31]利用 ELISA 分析了 311 份鲜鱼与鱼制品中的组胺并与 HPLC 测定结果一致。但该法对不同的生物胺较难进行同时分析, 检测过程易出现交叉反应, 且制备高特异性与亲和力的抗体存在一定的困难, 目前大多用于组胺的分析, 适于低含量的测定。

4 生物胺的控制技术

生物胺多由于运输、生产加工和销售过程中污染了具有氨基酸脱羧酶或脱氢酶活性的微生物从而对前体物质进行脱羧或脱氢作用。因此, 控制生物胺就必须抑制前体物质的脱羧或脱氢反应, 减少微生物的污染、抑制其生长及降低其相关酶的活性, 而对于已经产生的生物胺, 则需寻找能降解生物胺的方法。生物胺的控制方式多样, 可以归为物理、化学和生物三个方面。

4.1 物理控制

物理控制主要包括对水产品的前续处理、低温贮藏、臭氧处理、辐照杀菌、超高压灭菌、气调控制等。物理控制方法一般操作简单、方便, 是较常用的方法, 无二次污染, 不会造成水产品营养损失及质地、风味、口感的破坏, 但需相应的设备, 能耗大。

前续处理一般对水产品运输和贮藏前进行相应清理步骤, 如鱼类表面的黏液、鱼鳃及肠道内存在着大量包括生物胺产生菌在内的微生物, 在贮藏与运输前对鱼的内脏、头部进行清理, 均能抑制生物胺的形成, 正如蒋倩倩等^[32]所报道的鲈鱼于冰藏放置 16 d 后整鱼中组胺增加量为 7.95 mg/100 g, 而鲈鱼片仅增加 4.39 mg/100 g, 降低了 55.2%。

低温贮藏利用低温条件下产胺菌生长缓慢, 氨基酸脱羧酶活性较低以抑制生物胺的形成。贮藏需及时和充分, Hosseini 等^[33]指出鲤鱼在 0、4、8 h 后进行冷藏, 8 h 后冷藏的鲤鱼中腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、组胺、酪胺均显著比 0、4 h 后进行冷藏的鲤鱼多。Chong 等^[34]指出了鲭鱼在 0 $^{\circ}\text{C}$ 贮存 16 d 后检测到组胺含量为 8.31 mg/kg, 而将鲭鱼在 25~29 $^{\circ}\text{C}$ 贮存 16 h, 组胺含量已达到 363.5 mg/kg。Jinadasa 等^[35]比较了 0、4、7 $^{\circ}\text{C}$ 对黄鳍金枪鱼中 TMA、组胺等指标的影响, 表示低于 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏产品的品质较好, 在 17 d 内组胺均低于 100 mg/kg。Li 等^[36]发现鲫鱼冰藏 36 d 后其总生物胺从 49.82 mg/kg 增加到 197.09 mg/kg, 而于 4 $^{\circ}\text{C}$ 储存 24 d 后从 49.82 mg/kg 增加到 219.35 mg/kg, 说明冰藏可更有效的抑制生物胺的产生。

臭氧处理是利用以氧原子的氧化作用在短时间内损坏微生物的细胞结构, 导致其最终失去生存能力以抑制生

物胺的生成。Mercogliano等^[37]指出经臭氧处理, 20 d后腐胺达 32.37 mg/kg, 尸胺达 132.30 mg/kg, 低于未处理的 53.63、175.20 mg/kg, 明显延长了 6 d 的货架期。

辐照杀菌是利用物理射线一般是 γ 射线直接或间接破坏微生物的核糖核酸、蛋白质、酶、细菌细胞膜等以抑制生物胺的生长。Nei等^[38]利用 35 kGy 的 γ 射线辐照处理无菌金枪鱼和鲱鱼鱼片可以达到除去组胺生成菌的目的, 其组胺含量均低于 LOD(10 mg/kg)。Özogul等^[39]将海鲷进行 2.5 和 5.0 kGy 的 γ 辐照处理后, 12 种生物胺除了胍丁胺和色胺均能被有效抑制。

超高压灭菌是以液体(如水等)作为介质对水产品施于 100~1000 MPa 压力, 能够杀灭产品中的微生物、钝化酶的活性, 从而抑制生物胺的形成。Křížek等^[40]指出了白斑狗鱼鱼片经 300 和 500 MPa 高压处理后, 腐胺、尸胺、亚精胺、精胺、组胺、酪胺、色胺和苯乙胺 8 种生物胺均不同程度的降低, 其中腐胺降低程度与压力增加具有剂量相关性。Gou等^[41]用 500 MPa 高压对鲑鱼干分别处理 5 min、10 min, 发现经 10 min 处理的鲑鱼干 TMA、DMA 分别为 11.19、15.41 mg/kg 低于未处理的 22.16、45.73 mg/kg。Kaur等^[42]比较了不同的高压 100、270、435 MPa 对斑节对虾处理 5 min, 发现 435 MPa 的高压处理对降低 TMA 等有害物质的生成效果最佳, 于 2 °C 贮藏 35 d 后 TMA 含量为 20.50 mg/kg 低于未处理组 35.13 mg/kg。

气调控制主要是利用一种或数种混合气体从而改变贮藏库或包装内空气的组成, 以抑制微生物的生长及相关酶的活性, 从而降低生物胺的形成。Yew等^[43]研究了不同气体组成(空气, 真空, 30% CO₂/65% N₂/5% O₂, 60% CO₂/35% N₂/5% O₂, 80% CO₂/15% N₂/5% O₂, 100% CO₂)对印度鲭鱼贮藏期间组胺、酪胺、腐胺、尸胺的影响, 结果显示 CO₂ 浓度越大, 对生物胺的生成抑制越显著, 如组胺的浓度与空气组相比分别降低了 6.4%、8.5%、70.3%、78.8%和 90.2%, 酪胺、腐胺、尸胺均有类似的趋势。Gui等^[44]对鲟鱼切片切碎后采用真空包装于 4 °C 贮存, 明显降低生物胺的含量。Goulas等^[45]以比例为 40%CO₂/30%O₂/30%N₂ 对经牛至精油处理后的腌海鲷鱼片进行气调包装, 明显降低了 TMA 的含量, 货架期延长至 33 d。

4.2 化学控制

化学控制主要对水产品添加不同类化合物(糖、食盐、酸、山梨酸钾等)或天然提取物(茶多酚、壳聚糖、溶菌酶等), 成本较低且不需要昂贵的仪器设备, 但有些添加物质对水产品的风味影响较大。

糖在高温下能与羰基化合物发生美拉德反应, 胡家伟^[46]发现组胺标准品与葡萄糖在 60 °C 美拉德反应 6 h, 组胺含量减少 94%, 100 °C 可减少 100%; 之后对鲭鱼肌肉进行 2.0%盐+3.0%葡萄糖浸泡处理, 再利用葡萄糖与组胺在

蒸煮下发生的美拉德反应, 发明了一种降低鲭鱼罐头中组胺的加工方法。李晓燕^[47]在此基础上, 对蓝圆鲹鱼肉用 1% 葡萄糖浸泡 20 min, 再添加 1%葡萄糖, 经蒸煮与高温高压处理 20 min 等步骤, 研发了一种能降低组胺的蓝圆鲹罐头。不仅如此, 糖的存在还可影响微生物的生长与酶的活性, Lorencová等^[48]发现乳糖的添加与盐浓度的增加可促进双歧杆菌脱羧酶活性, 造成生物胺含量的降低。

盐有较强的杀菌作用, Zhang等^[49]表示盐能很好的抑制鲱鱼肉中 8 种生物胺的含量, 且浓度越高效果越明显。Fan等^[50]发现 1.5%的盐与 1.5%盐+1.2%糖对黑鲟鱼进行干腌, 12 d 后, 两处理组腐胺、尸胺、酪胺分别为 12.92、14.30、27.41 与 9.38、39.18、50.54 mg/kg 均低于未处理组 25.39、45.87、74.75 mg/kg。Wang等^[51]发现草鱼在 10%高盐环境下其色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺明显被抑制, 货架期比对照组延长 18 d。Fuentes等^[52]指出使用混合盐类(NaCl+KCl)腌制鲈鱼, 比单盐 NaCl 更能明显降低组胺、腐胺、尸胺、TMA 的含量。

柠檬酸、琥珀酸、苹果酸、山梨酸钾、亚硝酸盐、双乙酸钠等具有一定的防腐作用, 通过抑制产胺菌的生长从而控制水产品中生物胺的产生。Mah等^[53]研究发现对发酵鳀鱼添加甘氨酸可以明显抑制腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺, 分别使这些生物胺下降 32.6%、78.4%、93.2%、100.0%、100.0%。Gençcelep等^[54]对珍珠鲷鱼添加不同浓度的山梨酸钾于 4 °C 下贮藏, 结果均明显降低了苯乙胺、腐胺、色胺的含量, 5%的浓度效果最好。Hu等^[55]表示鲭鱼分别经 0.3%山梨酸钾和 0.3%双乙酸钠溶液浸泡处理后, 于室温储藏 72 h 后, 组胺含量分别为 1063.92、1392.38 mg/kg 低于未处理组 4363.73 mg/kg。

天然的提取物和香料同样对生物胺的形成有一定的抑制, Cai等^[56]在石首鱼中添加 4 μ L/L 丁香、小茴香、留兰香油 10 °C 浸泡处理 2 h, 明显抑制了生物胺尤其是组胺、腐胺、尸胺的生成。Mohan等^[57]利用壳聚糖的成膜性, 可一定程度阻断微生物进入鱼体从而具有抗菌效果, 对长头沙丁鱼分别涂膜 1%、2%的壳聚糖, 其 TMA 分别降低了 26.1%、49%。Feng等^[58]利用茶多酚螯合辅酶中金属离子, 从而抑制或延缓鱼肉受酶分解的速度, 对黑鲷用 0.2%的茶多酚进行涂膜, 明显抑制了 TMA 的生成。Shi等^[59]研究了不同浓度的茶多酚、溶菌酶、壳聚糖对鲟鱼片中 TMA 等的影响, 结果显示 0.5%与 1%的茶多酚、0.01%与 0.05%的溶菌酶、2%的壳聚糖处理后均能有效抑制 TMA 的生成。

4.3 生物控制

生物控制包括影响产胺菌的生长、筛选具有生物胺降解酶、抑制游离氨基酸的脱羧反应。生物法较安全可靠, 可较好的保持水产品原有的风味, 产品的质量更稳定, 但需提前筛选具有相关酶活性的菌株, 此过程需要开展大量的研究。

水产品中的菌群自然状态下呈现着交替变化, 生物胺的量和种类通常取决于特定微生物群落及其数量, 混合发酵剂可以影响不同微生物菌群的相互作用从而影响产胺菌的生长以抑制生物胺的形成。Nie 等^[60]在银鲤鱼肠中添加植物乳杆菌和酿酒酵母, 培养 48 h 后腐胺、尸胺下降最为明显, 分别为 128.59、42.02 mg/kg 低于未添加组 204.63、176.73 mg/kg。Zeng 等^[61]在低盐发酵鱼块中接种混合菌种 (s1、s2), 造成酪胺、尸胺、腐胺含量不同程度降低, 其中, 酪胺含量分别从 14.6 到 44.7 mg/kg, 13.9 到 34.4 mg/kg 低于未处理组 16.5 到 100.5 mg/kg。

胺氧化酶可使生物胺氧化脱氢, 降解为氨、醛和过氧化氢; 胺脱氢酶可使生物胺脱氢生成醛从而降低生物胺的含量。因此, 筛选具有胺氧化酶或(和)胺脱氢酶活性的菌株成为控制生物胺形成的一个有效途径。Dapkevicus 等^[62]从 77 种乳酸菌菌种筛选了 5 种具有胺氧化酶的菌种, Jiang 等^[63]从鱼露中分离了一株降解生物胺菌, 经 16srDNA 鉴定为 SWA25 种盐单胞菌属, 是一种需氧、短杆状的革兰氏阴性菌。Tapingka 等^[64]指出极端嗜盐古菌具有组胺脱氢酶活性。对于已经存在的生物胺, 可以采用酶法降解。

谷氨酰胺转胺酶(MTGase)可以催化转酰胺反应, 导致蛋白质(或多肽)之间发生共价交联。由于 MTGase 可以催化蛋白质之间的氨基酸发生聚合, 从而抑制游离氨基酸发生脱羧反应即生物胺的形成。Yerlikaya 等^[65]研究发现 MTGase 不仅能抑制生物胺的形成, 还能改善鲭鱼的品质和货架期, 只有加入 2 g/kg 的 MTGase 时, 组胺含量低于消费限量(500 mg/kg, 腐胺、尸胺、酪胺含量下降最明显, 说明添加 2 g/kg 的 MTGase 能较好的抑制微生物的生长与生物胺的形成, 降低过敏性。

5 结语与展望

综上所述, 水产品中的生物胺是影响水产品的食用安全性和鲜度品质的重要因素, 对于其检测及控制是今后发展的重点领域。由于水产品样品基质复杂, 含量较低, 许多前处理较为繁琐, 目前水产品中生物胺的分析检测方法逐渐朝着简便、快速、灵敏、稳定、实用方向的发展, 因此色谱与质谱的联用、新型比色法、酶联免疫法等有望成为未来水产品中生物胺的检测的重要方法。

而对于生物胺的控制, 仅依靠一种方式进行控制难度较大, 可以利用栅栏技术^[66], 通过物理、化学和生物控制相结合, 研究出各种水产品相对应的一类低耗能、无污染、抑菌效果好的栅栏因子, 发挥其协同效应从而有效控制生物胺的形成, 以期良好改善与监控水产品中生物胺的滋生, 对于水产品质量与安全来说具有重大意义。

参考文献

- [1] Liu S, Zhong S, Ma C, *et al.* Assessment of spoilage progress for chilled tilapia fillets according to biogenic amines changes [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2012, 28(14): 277–282.
- [2] Shin-Hee K, Cheng-i W, Clemens RA, *et al.* Review: Histamine accumulation in seafoods and its control to prevent outbreaks of scombroid poisoning [J]. *J Aquatic Food Prod Technol*, 2004, 13(4): 81–100.
- [3] Cardozo M, Lima K SC, França T CC, *et al.* Biogenic amines: A Public health problem [J]. *Rev Virt De Quimica*, 2013, 5(2): 149–168.
- [4] Ali R, Shalaby. Significance of biogenic amines to food safety and human health [J]. *Food Res Int*, 1996, 29(96): 675–690.
- [5] 刘景, 任婧, 孙克杰. 食品中生物胺的安全性研究进展 [J]. *食品科学*, 2013, 34(5): 322–326.
- [6] Liu J, Ren J, Sun KJ. Safety of biogenic amines in foods [J]. *Food Sci*, 2013, 34(5): 322–326.
- [7] Muscarella M, Lo MS, Campaniello M, *et al.* Survey of histamine levels in fresh fish and fish products collected in Puglia (Italy) by ELISA and HPLC with fluorimetric detection [J]. *Food Control*, 2013, 31(1): 211–217.
- [8] Mazzucco E, Gosetti F, Bobba M, *et al.* High-performance liquid chromatography-ultraviolet detection method for the simultaneous determination of typical biogenic amines and precursor amino acids Applications in food chemistry [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(1): 127–134.
- [9] Donthuan J, Yunchalard S, Srijaranai S. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography for sensitive determination of five biogenic amines in fermented fish samples [J]. *Anal Method*, 2014, 6(4): 1128–1134.
- [10] Li G, Dong L, Wang A, *et al.* Simultaneous determination of biogenic amines and estrogens in foodstuff by an improved HPLC method combining with fluorescence labeling [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2014, 55(1): 355–361.
- [11] Gong X, Wang X, Qi N, *et al.* Determination of biogenic amines in traditional Chinese fermented foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) [J]. *Food Add Cont Part A Chem Anal Cont Exp Risk Ass*, 2014, 31(8): 1431–1437.
- [12] Li C, Jiang X, Hou X. Dielectric barrier discharge molecular emission spectrometer as gas chromatographic detector for amines [J]. *Microchem J*, 2015, 119: 108–113.
- [13] Slemr J. Determination of biogenic amines in meat by combined ion-exchange capillary gas chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1984, 283: 241–250.
- [14] Hwang BS, Wang JT, Choong YM. A rapid gas chromatographic method for the determination of histamine in fish and fish products [J]. *Food Chem*, 2003, 82(2): 329–334.
- [15] Carmen P, Marilena M, Donatella N, *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.
- [16] Jastrzbska A, Piasta A, Szlyk E. Application of ion chromatography for the determination of biogenic amines in food samples [J]. *J Anal Chem*, 2015, 70(9): 1131–1138.
- [17] Tao Z, Sato M, Han Y, *et al.* A simple and rapid method for histamine analysis in fish and fishery products by TLC determination [J]. *Food Control*, 2011, 22(8): 1154–1157.
- [18] Lapa-Guimaraes J, Pickova J. New solvent systems for thin-layer chromatographic determination of nine biogenic amines in fish and squid [J]. *J*

- Chromatogr A, 2004, 1045: 223–232.
- [18] An D, Chen ZQ, Zheng JC. Determination of biogenic amines in oysters by capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence [J]. Food Chem, 2015, 168: 1–6.
- [19] Timm M, Jørgensen BM. Simultaneous determination of ammonia, dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine-n-oxide in fish extracts by capillary electrophoresis with indirect UV-detection [J]. Food Chem, 2002, 76(4): 509–518.
- [20] Patange SB, Mukundan MK, Kumar KA. A simple and rapid method for colorimetric determination of histamine in fish flesh [J]. Food Control, 2005, 16(5): 465–472.
- [21] Leng PQ, Zhao FL, Yin BC, *et al.* A novel, colorimetric method for biogenic amine detection based on arylalkylamine N-acetyltransferase [J]. Chem Commun, 2015, 51(41): 8712–8714.
- [22] Romero-González R, Alarcón-Flores MI, Martínez Vidal JL, *et al.* Simultaneous determination of four biogenic and three volatile amines in anchovy by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(21): 5324–5329.
- [23] Randy L, Self, Wen-Hsin, *et al.* 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): 5906–5913.
- [24] Mazzotti F, Donna LD, Napoli A. N-hydroxysuccinimidyl p-methoxybenzoate as suitable derivative reagent for isotopic dilution assay of biogenic amines in food [J]. J Mass Spect, 2014, 49(9): 802–810.
- [25] Chung SWC, Chan BTP. Trimethylamine oxide, dimethylamine, trimethylamine and formaldehyde levels in main traded fish species in Hongkong [J]. Food Add Contam Part B Surv, 2009, 2(1): 44–51.
- [26] Shumilina E, Ciampa A, Capozzi F, *et al.* NMR approach for monitoring post-mortem changes in Atlantic salmon fillets stored at 0 and 4 °C [J]. Food Chem, 2015, 57: 12–22.
- [27] Heude C, Lemasson E, Elbayed K. *et al.* Rapid assessment of fish freshness and quality by ¹H HR-MAS NMR spectroscopy [J]. Food Anal Method, 2015, 8(4): 907–915.
- [28] Henao-Escobar W, Román LT, Domínguez-Renedo O, *et al.* Dual enzymatic biosensor for simultaneous amperometric determination of histamine and putrescine [J]. Food Chem, 2016, 190: 816–823.
- [29] Draisci R, Volpe G, Lucentini L, *et al.* Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies [J]. Food Chem, 1998, 62(97):225–232.
- [30] Simon-Sarkadi L, Gelencser E, Vida A. Immunoassay method for detection of histamine in foods [J]. Acta Alim Bud, 2003, 32(1): 89–93.
- [31] Muscarella M, Magro SL, Campaniello M, *et al.* Survey of histamine levels in fresh fish and fish products collected in Puglia (Italy) by ELISA and HPLC with fluorimetric detection [J]. Food Control, 2013, 31(1): 211–217.
- [32] 蒋倩倩, 戴志远, 赵巧灵, 等. 冰藏鲧鱼中组胺的产生及腐败微生物的变化 [J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 219–224.
Jiang QQ, Dai ZY, Zhao QL, *et al.* Histamine production and spoilage microorganisms variation of the ice-stored mackerel [J]. J f Chin Inst Food Sci Technol, 2013, 13(8): 219–224.
- [33] Hosseini SV, Hamzeh A, Moslemi M, *et al.* Effect of delayed icing on biogenic amines formation and bacterial contribution of iced common carp (Cyprinus carpio) [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2013, 18(12): 15464–15473.
- [34] Chong CY, Bakar FA, Rahman RA, *et al.* Biogenic amines, amino acids and microflora changes in Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) stored at ambient (25–29 °C) and icing (0 °C) temperature [J]. J Food Sci Technol, 2014, 51(6): 1118–1125.
- [35] Jinadasa B, Galhena CK, Liyanage N, *et al.* Histamine formation and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) stored at different temperatures [J]. Cogent Food Agric, 2015, 1(1): 1028735.
- [36] Li K, Bao Y, Luo Y, *et al.* Formation of biogenic amines in crucian carp (*Carassius auratus*) during storage in ice and at 4 °C [J]. J Food Prot, 2012, 75(75): 2228–2233.
- [37] Mercogliano R, Felice AD, Murru N, *et al.* Ozone decontamination of poultry meat and biogenic amines as quality index [J]. J Food Proc Technol, 2014, 5(3): 305.
- [38] Nei D. Evaluation of Non-bacterial factors contributing to histamine accumulation in fish fillets [J]. Food Control, 2014, 35(1): 142–145.
- [39] Ozogul F, Ozden O. The effects of gamma irradiation on the biogenic amine formation in sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice [J]. Food Bioproc Technol, 2013, 6(5): 1343–1349.
- [40] Křížek M, Matějková K, Vácha F, *et al.* Biogenic amines formation in high-pressure processed pike flesh (*Esox lucius*) during storage [J]. Food Chem, 2014, 151(4): 466–471.
- [41] Gou J, Choi G, Ahn J. Biochemical quality assessment of sem-dried squid (*todarodes pacificus*) treated with high hydrostatic pressure [J]. J Food Biochem, 2012, 36(2): 171–178.
- [42] Kaur BP, Kaushik N, Rao PS, *et al.* Effect of high-pressure processing on physical, biochemical, and microbiological characteristics of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. Food Bioproc Technol, 2013, 6(6): 1390–1400.
- [43] Yew CC, Bakar FA, Rahman RA, *et al.* Effects of modified atmosphere packaging with various carbon dioxide composition on biogenic amines formation in indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) stored at 5±1 °C [J]. Pack Technol Sci, 2014, 27(3): 249–254.
- [44] Gui M, Zhao B, Song JY. Biogenic amines formation, nucleotide degradation and TVB-N accumulation of vacuum-packed minced sturgeon (*Acipenser schrencki*) stored at 4 °C and their relation to microbiological attributes [J]. J Sci Food Agric, 2014, 94(10): 2057–2063.
- [45] Goulas AE, Kontominas MG. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes [J]. Food Chem, 2007, 100: 287–296.
- [46] 胡家伟. 水产食品中组胺的监控技术研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2014.
Hu JW. The monitoring and control technology research of histamine in aquatic food [D]. Xiamen: Jimei University, 2014.
- [47] 李晓燕. 美拉德反应结合罐头加工对蓝圆鲹过敏性的影响 [D]. 厦门: 集美大学, 2015.
Li XY. Effect of the Maillard reaction combined with canned processing on the allergenicity of *Decapterus maruadsi* [D]. Xiamen: Jimei University, 2015.
- [48] Lorencová E, Buňková L, Pleva P, *et al.* Selected factors influencing the ability of *Bifidobacterium* to form biogenic amines [J]. Int J Food Sci Technol, 2014, 49(5):1302–1307

- [49] Zhang YM, Qin N, Luo YK. Effects of different concentrations of salt and sugar on biogenic amines and quality changes of carp (*Cyprinus carpio*) during chilled storage [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(6): 1157–1162
- [50] Fan HB, Luo YK, Yin XF, *et al.* Biogenic amine and quality changes in lightly salt- and sugar-salted black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fillets stored at 4 °C [J]. *Food Chem*, 2014, 159: 20–28.
- [51] Wang H, Luo Y, Yin X, *et al.* Effects of salt concentration on biogenic amine formation and quality changes in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 and 20 °C [J]. *J Food Prot*, 2014, 77: 796–804.
- [52] Fuentes A, Fernández-Segovia I, Serra BJA. Influence of sodium replacement and packaging on quality and shelf life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2011, 44(4): 917–923.
- [53] Mah JH, Hwang HJ. Effects of food additives on biogenic amine formation in Myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (*Engraulis japonicus*) [J]. *Food Chem*, 2009, 114(1): 168–173.
- [54] Genççelep H, Andiç S, Köse Ş. Effects of potassium sorbate application on shelf life and biogenic amines of pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi Pallas*, 1811) fillets packaged with vacuum [J]. *J Aquatic Food Prod Technol*, 2014, 23(4): 347–357.
- [55] Hu JW, Cao MJ, Guo SC, *et al.* Identification and inhibition of histamine-forming bacteria in blue scad (*Decapterus maruadsi*) and chub mackerel (*Scomber japonicus*) [J]. *J Food Prot*, 2015, 78: 383–389.
- [56] Cai L, Cao A, Li Y, *et al.* The effects of essential oil treatment on the biogenic amines inhibition and quality preservation of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets [J]. *Food Control*, 2015, 56: 1–8.
- [57] Mohan CO, Ravishankar CN, Lalitha KV, *et al.* Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage [J]. *Food Hyd*, 2012, 26(1): 167–174.
- [58] Feng L, Jiang T, Wang Y, *et al.* Effects of tea polyphenol coating combined with ozone water washing on the storage quality of black sea bream (*Sparus macrocephalus*) [J]. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2915–2921
- [59] Shi J B, Xie J, Gao Z L, *et al.* Effects of tea polyphenols, lysozyme and chitosan on improving preservation quality of pomfret fillet [J]. *Adv Mater Res*, 2013, 781: 1582–1588.
- [60] Nie X, Zhang Q, Lin S. Biogenic amine accumulation in silver carp sausage inoculated with *Lactobacillus plantarum* plus *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Food Chem*, 2014, 153(9): 432–436.
- [61] Zeng X, Xia W, Yang F, *et al.* Changes of biogenic amines in Chinese low-salt fermented fish pieces (Suan yu) inoculated with mixed starter cultures [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2013, 48(4): 685–692
- [62] Dapkevicius MLNE, Nout MJR, Rombouts FM, *et al.* Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms [J]. *Int J Food Microbiol*, 2000, 57(1): 107–114.
- [63] Jiang W, Li CS, Xu BH, *et al.* *Halomonas shantousis* sp. nov., a novel biogenic amines degrading bacterium isolated from Chinese fermented fish sauce [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2014, 106(6): 1073–1080.
- [64] Tapingkae W, Tanasupawat S, Parkin K L, *et al.* Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt-fermented fishery products [J]. *Enzyme Micro Technol*, 2010, 46(2): 92–99.
- [65] Yerlikaya P, Gokoglu N, Ucak I, *et al.* Suppression of the formation of biogenic amines in mackerel mince by microbial transglutaminase [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(11): 2215–2221.
- [66] 郭燕茹, 顾赛麒, 王帅, 等. 栅栏技术在水产品加工与贮藏中应用的研究进展 [J]. *食品科学*, 2014, 35: 339–342.
- Guo YR, Gu SQ, Wang S, *et al.* Research advances in application of hurdle technology for aquatic products processing and storage [J]. *Food Sci*, 2014, 35: 339–342.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



刘 红, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: liuhonghappily@qq.com



刘光明, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品加工与安全。

E-mail: gmliu@jmu.edu.cn