

高效液相色谱法检测食品中生物胺的不同离线衍生策略的比较分析

杨 静¹, 刘宗科², 邹 鹏², 王 琨¹, 李艳莉¹, 郭春锋^{3*}

(1. 杨凌质量技术检测检验所, 杨凌 712100; 2. 眉县食品安全检验检测中心, 眉县 722300;
3. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100)

摘 要: **目的** 比较和分析高效液相色谱法检测食品生物胺过程中最常用的4种离线衍生策略。**方法** 分别采用丹磺酰氯、9-芴甲基氯甲酸酯、苯甲酰氯、4-二甲胺基苯基偶氮苯磺酰氯对混合酱油样品和混合葡萄酒样品中的生物胺进行衍生, 分别于衍生后的0、24和48 h用紫外检测器-反相高效液相色谱法定量分析生物胺衍生物的水平。**结果** 4种衍生剂均能与腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、酪胺、 β -苯乙胺、组胺、色胺的胺基反应, 但衍生产物的稳定性不同, 采用丹磺酰氯制备的生物胺衍生物最稳定, 在室温下放置48 h未发现显著降解, 而采用其他衍生剂制备的某些特定生物胺衍生物则发生了显著降解。此外, 采用不同衍生策略制备的8种生物胺衍生物在C₁₈色谱柱上的洗脱顺序也存在差异。**结论** 采用丹磺酰氯制备的生物胺衍生物具有高稳定性, 适合在高效液相色谱仪上采用批处理程序进行定量分析, 而采用其他3种衍生剂制备的某些特定生物胺的衍生物稳定性不佳, 不适合在高效液相色谱仪上采用批处理程序进行定量分析。

关键词: 生物胺; 衍生; 丹磺酰氯; 9-芴甲基氯甲酸酯; 苯甲酰氯; 4-二甲胺基苯基偶氮苯磺酰氯

Comparative analysis of different off-line derivatization strategies for the determination of biogenic amines in food by high performance liquid chromatography

YANG Jing¹, LIU Zong-Ke², ZOU Peng², WANG Kun¹, LI Yan-Li¹, GUO Chun-Feng^{3*}

(1. Yangling Quality and Technical Inspection Center, Yangling 712100, China; 2. Meixian Food Safety Inspection Center, Meixian 722300, China; 3. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

ABSTRACT: Objective To compare and analyze 4 kinds of most commonly used off-line derivatization strategies in the detection of food biogenic amines by high performance liquid chromatography. **Method** Biogenic amines in both mixed soy sauce samples and mixed red wine samples were derivatized with dansyl chloride, 9-fluoromethoxycarbonyl chloride, benzoyl chloride and dabsyl chloride, respectively. Subsequently, the levels of biogenic amine derivatives were quantitatively analyzed by ultraviolet detector reversed phase high performance liquid chromatography at 0, 24 and 48 hours after derivatization. **Results** Four kinds of derivatives could react with putrescine, cadaverine, spermine, spermidine, tyramine, β -phenylethylamine, histamine and tryptamine, but the

基金项目: 陕西省市场监督管理局科技计划项目(2019KY13)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Shaanxi Administration for Market Regulation (2019KY13)

*通信作者: 郭春锋, 博士, 教授, 主要研究方向为益生菌科学与技术。E-mail: gcf@nwfau.edu.cn

*Corresponding author: GUO Chun-Feng, Professor, College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University, No.22, Xinning Road, Yangling 712100, China. E-mail: gcf@nwfau.edu.cn

stability of the reaction products was different. The biogenic amine derivatives prepared with dansyl chloride were the most stable, and no significant degradation was found after 48 hours at room temperature, while some specific biogenic amine derivatives prepared with other derivatives were significantly degraded. In addition, the elution sequence of 8 kinds of biogenic amine derivatives prepared by different derivatization strategies on C₁₈ column was also different. **Conclusion** The biogenic amine derivatives prepared by dansyl chloride have high stability and are suitable for quantitative analysis using batch program on high performance liquid chromatograph. However, the derivatives of some specific biogenic amines prepared by other 3 kinds of derivatives have poor stability and are not suitable for quantitative analysis using batch program on high performance liquid chromatograph.

KEY WORDS: biogenic amine; derivatization; high performance liquid chromatography; dansyl chloride; 9-fluoromethoxycarbonyl chloride; benzyol chloride; dabsyl chloride

0 引言

生物胺是发酵食品中常见的一类具有生物活性的胺类化合物的总称,主要由具有氨基酸脱羧酶活性的微生物对食品基质中的氨基酸的脱羧作用产生^[1]。发酵食品中常见的生物胺主要有 8 种,即腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、酪胺、 β -苯乙胺、组胺和色胺,其中,前 4 种属于脂肪族生物胺;酪胺和 β -苯乙胺属于芳香族生物胺;组胺和色胺属于杂环族生物胺^[2]。尽管生物胺在低浓度时具有特定的生理活性,但在较高浓度下则会显示一定的毒性作用,特别是组胺和酪胺^[3],可导致偏头痛和高血压等不良反应^[4],故生物胺常被认为是反映食品安全性的重要指标之一^[5]。

研究者已经开发了多种检测食品中生物胺水平的方法,包括毛细管电泳色谱法^[6-7]、生物传感器法^[8-9]、液相色谱质谱联用法^[10-11]和高效液相色谱法^[12-13]等。毛细管电泳色谱法分析生物胺不需要衍生样品、分析速度快、溶剂消耗少,但保留时间重现性不佳,且灵敏度不高^[14];生物传感器法分析生物胺具有操作简便、选择性高等优势,但分析成本较高,且难以同时分析多种生物胺^[9];液相色谱质谱联用法分析生物胺同样不需要对样品进行衍生,也具有分析速度快和特异性高的优点,但定量分析的准确度和精密度通常不高。相比之下,高效液相色谱法分析生物胺由于避免了上述方法的大多数局限,应用最广。

由于生物胺特别是脂肪族生物胺的紫外和荧光响应低,因此在用高效液相色谱法检测之前对目标物进行衍生化处理以提高其紫外或荧光响应通常是必需步骤。柱前离线衍生是应用最广泛的衍生策略,其常用的衍生试剂有丹磺酰氯(dansyl chloride, Dans-Cl)^[15]、9-芴甲基氯甲酸酯(9-fluoromethoxycarbonyl chloride, Fmoc-Cl)^[16]、苯甲酰氯(benzyol chloride, Benz-Cl)^[17]和 4-二甲胺基苯基偶氮苯磺酰氯(dabsyl chloride, Dabs-Cl)^[18]等。在液相色谱分析过程中,样品批处理分析程序经常使用,这要求待分析物质在分析过程中应具有足够高的稳定性,否则将直接影响定量

结果的准确度,然而目前很少有文献对基于上述衍生策略制备的生物胺衍生物的稳定性进行评价。

发酵肉乳制品^[19]、发酵水产品^[11]、发酵乳制品^[20]、发酵谷物^[21]和发酵果蔬^[22]是最受关注生物胺水平的发酵食品。本研究以发酵谷物酿造酱油和发酵水果红葡萄酒为试验材料,比较和分析了基于上述衍生策略制备的生物胺衍生物的稳定性,以期研究者选择能够准确定量食品生物胺水平的衍生策略提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红葡萄酒:共计 4 个样品,均为干红类型,中国和澳大利亚品牌各 2 个;从每个样品中取样 100 mL,混合在一起,作为试验样品,于 4℃冰冷藏待用。酿造酱油:共计 4 个样品,为国内 4 个不同品牌,其中高盐稀态发酵酱油 2 个、低盐固态发酵酱油 2 个;从每个样品中取样 100 mL,混合在一起,作为试验样品,于 4℃冷藏待用。

生物胺(腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、酪胺、 β -苯乙胺、组胺、色胺,均为盐酸盐,分析纯)、衍生剂(Dans-Cl、Fmoc-Cl、Benz-Cl、Dabs-Cl)(色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司);甲醇、乙腈、丙酮、三氯甲烷、正丁醇、乙酸乙酯(色谱纯,美国赛默飞世尔科技公司);氢氧化钠、碳酸氢钠、氨水、硼酸钠、氯化钠(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);Vortex-2 漩涡混合器(德国 IKA 公司);Elix advantage 超纯水系统(美国 Millipore 公司);N-EVAP-34 氮吹仪(美国 Organomation 公司);FE28 -Standard pH 计(瑞士梅特勒-托利多国际有限公司);Allegra 64R 高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司);Rotavapor R-210 旋转蒸发仪(瑞士步琦有限公司);Precision SWB 15 恒温水浴器(美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 生物胺标准溶液的配制

将腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、酪胺、 β -苯乙胺、组胺和色胺盐酸盐分别溶解在 0.1 mol/L 盐酸中, 配制成终浓度为 1 mmol/L 的标准溶液。

1.3.2 样品中生物胺的提取与衍生

将 20 mL 红葡萄酒或酿造酱油样品加入 50 mL 离心管中, 逐滴加入 4 mol/L 氢氧化钠溶液, 将 pH 调至约 12.0, 再依次加入 5 mL 三氯甲烷和 5 mL 正丁醇, 涡旋混匀, 于 3000 g 离心 10 min, 吸取下层有机相, 重复操作 2 次, 合并有机相, 涡旋混匀, 添加 0.4 mL 10 mol/L 盐酸, 于 50 °C 旋转蒸发至近干, 然后加入 20 mL 0.1 mol/L 盐酸, 复溶残留物, 待衍生。

1.3.3 Dans-Cl 衍生

将 0.1 mL 样品或标准溶液加入具塞试管中, 再依次加入 0.3 mL 20 g/L 碳酸氢钠溶液和 0.5 mL 5 g/L Dans-Cl 丙酮溶液, 涡旋混匀, 于 45 °C 水浴避光孵育 1 h, 随后加入 0.1 mL 浓氨水, 继续加热 10 min, 以去除多余衍生剂, 然后添加丙酮将总体积调至 2 mL^[23]。

1.3.4 Fmoc-Cl 衍生

将 0.1 mL 样品或标准溶液加入具塞试管中, 再依次加入 0.3 mL 0.1 mol/L 硼酸钠缓冲液(pH 9.0)、0.1 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液和 0.5 mL 10 mmol/L Fmoc-Cl 乙腈溶液, 涡旋混匀, 于室温下静置反应 3 min, 随后加入 0.1 mL 浓氨水, 涡旋混匀, 以去除多余衍生剂, 然后添加乙腈将总体积调至 2 mL^[24]。

1.3.5 Benz-Cl 衍生

将 0.1 mL 样品或标准溶液加入 10 mL 钳口瓶中, 随后依次加入 0.5 mL 0.2 mol/L 硼酸钠缓冲液(pH 10.0)和 50 μ L 3% Benz-Cl 乙腈溶液, 涡旋混匀, 压紧瓶盖, 于 30 °C 水浴超声衍生 30 min, 然后加入 1.25 mL 饱和氯化钠溶液以终止反应, 随后加入 5 mL 乙酸乙酯, 涡旋混匀, 静置 10 min, 取 2.5 mL 上层有机相, 于 50 °C 氮气下吹干, 再用 1 mL 甲醇复溶固形物^[25]。

1.3.6 Dabs-Cl 衍生

将 0.1 mL 样品或标准溶液加入 10 mL 钳口瓶中, 随后依次加入 0.3 mL 0.15 mol/L 碳酸氢钠缓冲液(pH 8.6)、0.1 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液和 1.2 mL 5 mmol/L Dabs-Cl 丙酮溶液, 涡旋混匀, 压紧瓶盖, 于 70 °C 水浴衍生 20 min, 待冷却至室温后, 加入丙酮将总体积调至 2 mL^[26]。

1.3.7 高效液相色谱分析

衍生产物经 0.45 μ m 尼龙滤膜过滤后在高效液相色谱仪上对目标物进行分析, 进样量 20 μ L, 采用表 1 所列的梯度洗脱程序在安捷伦 Eclipse XDB-C₁₈ 反相色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 上使用 40 °C 柱温和 1 mL/min 柱流量对目标物进行分离, 采用紫外检测器在特定波长下对目标物进行检测。

表 1 高效液相色谱分析条件
Table 1 High performance liquid chromatographic conditions for the analyses

衍生剂	流动相	梯度洗脱		波长/nm
		时间/min	溶剂 B/%	
Dans-Cl	A-水 B-甲醇	0	55	254
		30	75	
		40	90	
		47	90	
		48	55	
		55	55	
Fmoc-Cl	A-水 B-乙腈	0	60	265
		40	100	
		47	100	
		48	60	
		57	60	
		0	38	
Benz-Cl	A-水 B-甲醇	5	52	254
		10	58	
		15	67	
		20	75	
		26	85	
		36	38	
Dabs-Cl	A-水 B-乙腈	46	38	436
		0	40	
		30	90	
		40	90	
		41	40	
		50	40	

1.3.8 数据处理

所有定量检测试验均重复 3 次, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。使用 SPSS 18.0 软件对试验数据进行统计分析, 采用一维方差分析对不同组间的差异进行比较, 组间多重比较策略选择 Turkey 法。当显著性水平 $P<0.05$ 时认为组间存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 生物胺衍生产物及色谱分离

本研究分析的 8 种生物胺分子在其胺基类型和数量上存在较大差异。如表 2 所示, 腐胺、尸胺、酪胺和 β -苯乙胺分子只含伯胺基, 而精胺、亚精胺、组胺和色胺分子既含伯胺基又含仲胺基; β -苯乙胺和酪胺分子只含 1 个胺基, 腐胺、尸胺和色胺分子含 2 个胺基, 亚精胺和组胺分子含 3 个胺基, 而精胺分子则含 4 个胺基。

表 2 8 种生物胺的分子结构
Table 2 Molecular structures of 8 kinds of biogenic amines

生物胺	分子式	结构式	CAS 号
腐胺	C ₄ H ₁₂ N ₂		110-60-1
尸胺	C ₅ H ₁₄ N ₂		462-94-2
精胺	C ₁₀ H ₂₆ N ₄		71-44-3
亚精胺	C ₇ H ₁₉ N ₃		124-20-9
β-苯乙胺	C ₈ H ₁₁ N		64-04-0
酪胺	C ₈ H ₁₁ NO		51-67-2
组胺	C ₅ H ₉ N ₃		51-45-6
色胺	C ₁₀ H ₁₂ N ₂		61-54-1

在衍生剂与生物胺的反应特性方面,上述 4 种衍生剂均能与生物胺的伯胺基或仲胺基发生缩合反应^[27],并且在反应过程中均释放出氯化氢(图 1),因此将反应体系维持在碱性环境以中和生成的氯化氢对提高衍生产物得率非常重要。

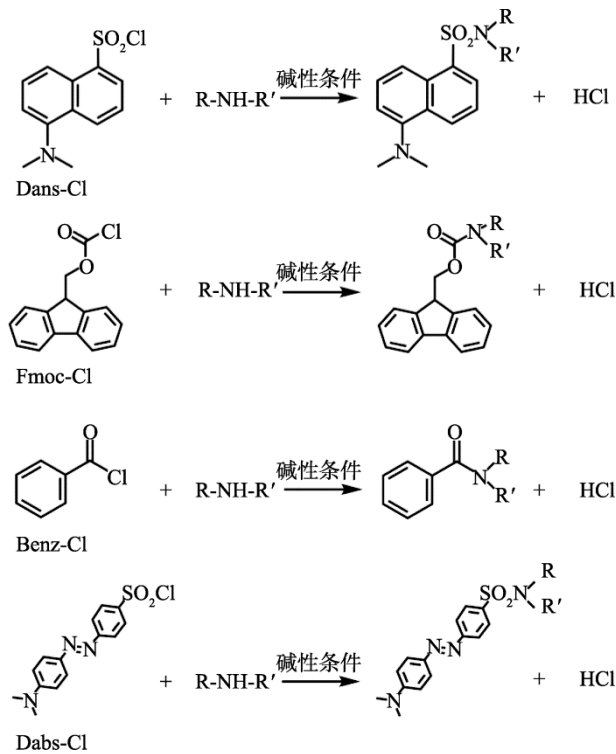


图 1 4 种衍生剂与生物胺反应的原理图
Fig.1 Schematic diagrams illustrating reactions of the 4 kinds of derivatizing reagents with the biogenic amines

在本研究分析的 8 种生物胺中,除了 β-苯乙胺和酪胺外,其他生物胺均属于多胺,然而这些多胺的胺基有时并不能都与特定的衍生剂发生缩合反应。如表 3 所示, Fmoc-Cl 只能与精胺和亚精胺的伯胺基发生反应,并且也只能与组胺的仲胺基发生反应,而 Benz-Cl 则只能与组胺的伯胺基发生反应。此外,4 种衍生剂均无法与色胺的仲胺基反应。

表 3 8 种生物胺与 4 种衍生剂形成的衍生物的分子结构
Table 3 Molecular structures of derivatives formed by 8 kinds of biogenic amine derivatives and 4 kinds of derivatizing reagents

生物胺	被衍生的胺基类型			
	Dans-Cl ^[28]	Fmoc-Cl ^[29]	Benz-Cl ^[30]	Dabs-Cl ^[31]
腐胺	2×P	2×P	2×P	2×P
尸胺	2×P	2×P	2×P	2×P
精胺	2×P+2×S	2×P	2×P+2×S	2×P+2×S
亚精胺	2×P+1×S	2×P	2×P+1×S	2×P+1×S
β-苯乙胺	1×P	1×P	1×P	1×P
酪胺	1×P	1×P	1×P	1×P
组胺	1×P+1×S	1×S	1×P	1×P+1×S
色胺	1×P	1×P	1×P	1×P

注: P 代表伯胺基, S 代表仲胺基。

由于 4 种衍生剂与多胺不同类型胺基的反应能力上存在差异,故产生的生物胺衍生物在 C₁₈ 色谱柱上的洗脱顺序也不同。如图 2 所示,使用 Dans-Cl、Benz-Cl 和 Dabs-Cl 制备的生物胺衍生物在 C₁₈ 色谱柱上的洗脱顺序类似,而使用 Fmoc-Cl 制备的生物胺衍生物则与此差别较大。

在生物胺衍生物的色谱峰分离方面,采用 Dans-Cl 和 Dabs-Cl 制备的生物胺衍生物在当前色谱条件下分离得较好,峰形尖锐对称,未见前沿峰和拖尾峰;采用 Benz-Cl 制备的生物胺衍生物尽管彼此间实现了基线分离,但部分衍生物还是呈现了轻微的前沿峰;采用 Fmoc-Cl 制备的生物胺衍生物尽管色谱峰形尖锐对称,但腐胺衍生物和组胺衍生物的色谱峰之间未能实现基线分离,经过优化后的分离度仅为 1.3。

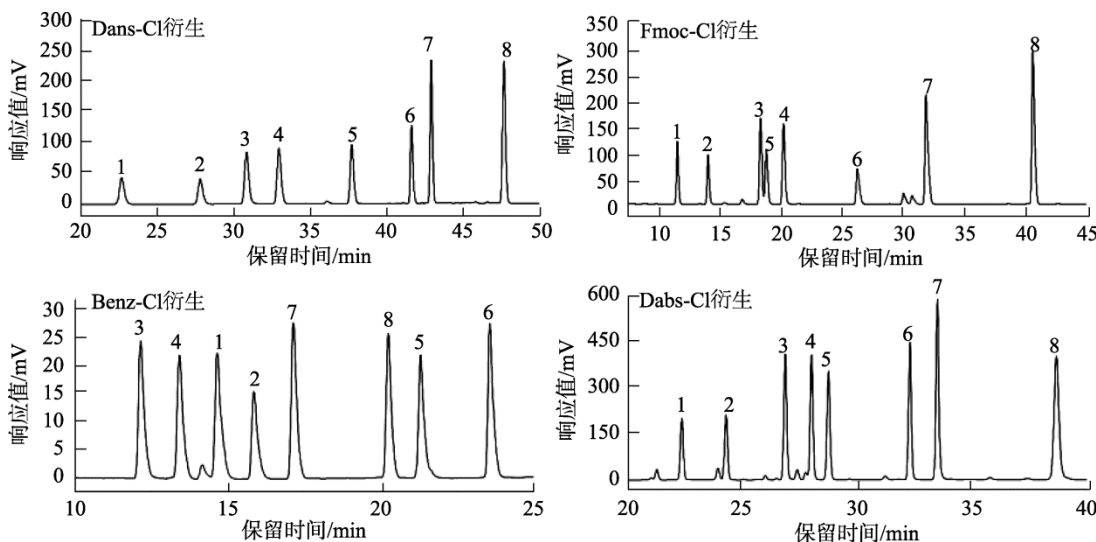
在生物胺衍生物的紫外响应强度方面,由于 Benz-Cl 分子中只含 1 个苯环,而 Dans-Cl、Fmoc-Cl 和 Dabs-Cl 分子都含 2 个苯环,因此采用 Benz-Cl 制备的生物胺衍生物具有相对低的紫外响应,即其在紫外检测器上的检出限相对较高、灵敏度相对更低。图 2 中不同子图在纵坐标数值上的差异便说明了该点。

酿造酱油按照生产工艺不同分为高盐稀态发酵酱油和低盐固态发酵酱油 2 种,前者生物胺含量通常显著高于后者,但对于同一类型酱油,不同品牌产品在生物胺水平上差异极大,这主要由不同企业在生产过程中使用的发酵微生物种类、原料类型、发酵工艺以及发酵参数等不同所致^[32]。基于该原因,本研究将不同品牌的酱油样品进行了

混合处理, 以使试验结果更具代表性。

分别采用 4 种衍生策略对混合酱油样品中的生物胺进行了衍生。从图 3 可以看出, 混合酱油样品中可检出 8 种生物胺, 含量从高到低依次为腐胺、酪胺、 β -苯乙胺、尸胺、亚精胺、精胺、组胺和色胺。采用 Dans-Cl 制备的生物胺衍生物显示了极高稳定性, 在室温下放置 48 h 内未发现显著降解。相比之下, 采用 Fmoc-Cl 制备的生物胺衍生物则显示

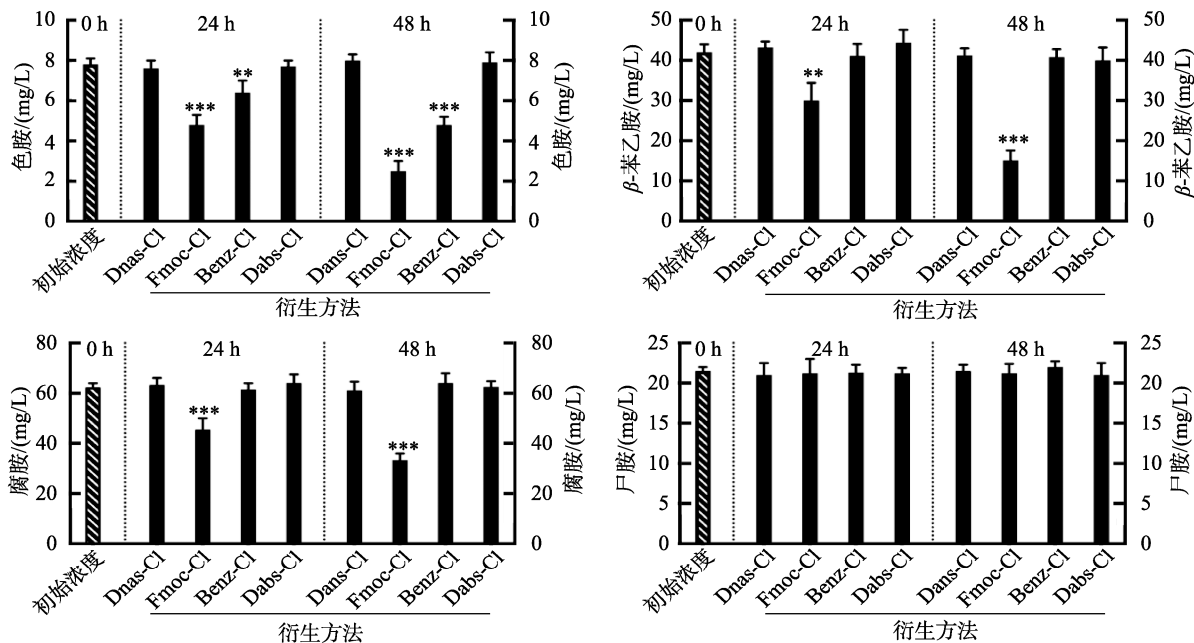
了较差的稳定性, 除了尸胺以外, 其他 7 种生物胺的衍生物在室温下放置 48 h 内均显示了不同程度的显著降解, 特别是组胺衍生物, 其在衍生后的 24 h 已经降解到低于检出限的水平。采用 Benz-Cl 制备的色胺衍生物也存在不稳定现象, 在室温下放置 24 和 48 h 后, 分别显著降解了 18% 和 38%。此外, 采用 Dabs-Cl 制备的组胺衍生物稳定性也不佳, 在室温下放置 24 和 48 h 后分别显著降解了 15% 和 26%。



注: 1. 色胺; 2. β -苯乙胺; 3. 腐胺; 4. 尸胺; 5. 组胺; 6. 酪胺; 7. 亚精胺; 8. 精胺。每种生物胺标准溶液的浓度为 1 mmol/L。

图 2 生物胺标准物质衍生物的色谱分离图

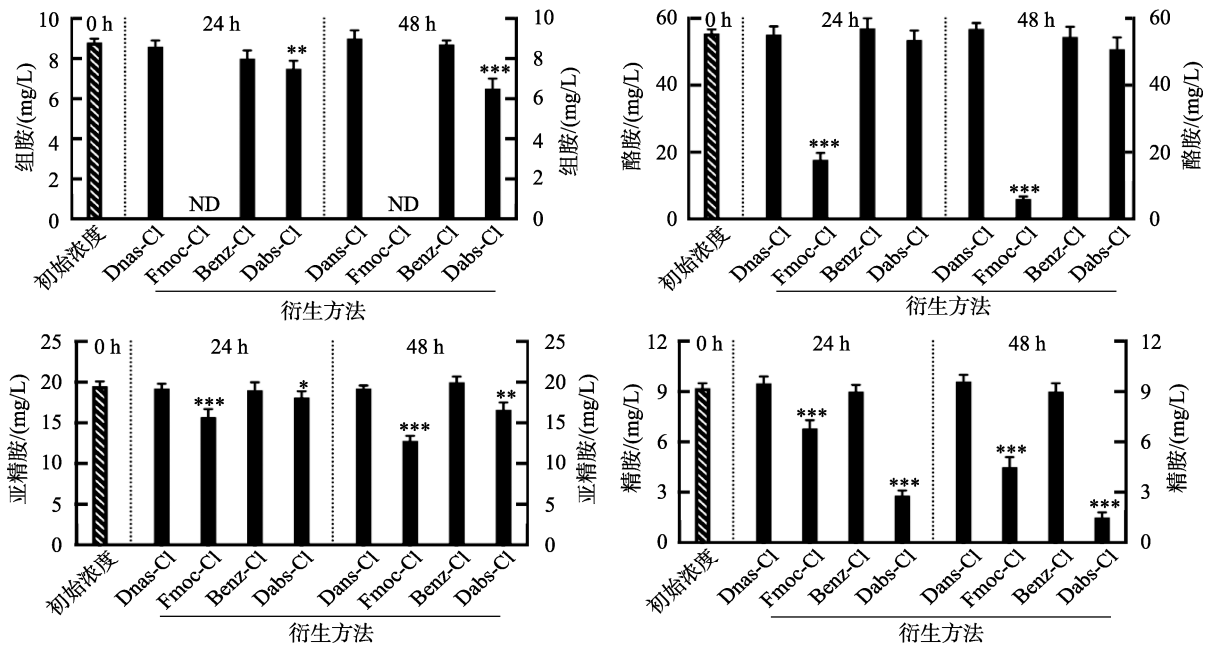
Fig.2 Chromatographic separation charts for the derivatives of the biogenic amine standards



注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; ND 表示未检出; 下同。

图 3 采用 4 种不同衍生剂制备的酱油中生物胺衍生物在室温下的稳定性比较($n=3$)

Fig.3 Comparison of stability of biogenic amine derivatives in soy sauce prepared with 4 kinds of different derivatives at room temperature ($n=3$)



注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; ND 表示未检出; 下同。

图 3(续) 采用 4 种不同衍生剂制备的酱油中生物胺衍生物在室温下的稳定性比较($n=3$)

Fig.3 Comparison of stability of biogenic amine derivatives in soy sauce prepared with 4 kinds of different derivatives at room temperature ($n=3$)

葡萄酒按颜色不同可划分为红葡萄酒、白葡萄酒和粉红葡萄酒,其中干红类型的红葡萄酒具有最高的市场占有率,其生物胺水平也更受关注。由于不同商家在干红葡萄酒制作过程中使用的发酵微生物种类、葡萄品种、发酵工艺和发酵参数等不同,故导致其最终产品中的生物胺水平存在较大差异,甚至存放年份在一定程度上也会影响其生物胺水平^[33]。为了避免数据极端化,本研究将不同品牌的葡萄酒进行了混合处理。

分别采用上述衍生策略对葡萄酒样品中的生物胺进行了衍生。从图 4 可以看出,干红葡萄酒中的生物胺主要有 4 种,从高到低依次为腐胺、酪胺、组胺和 β -苯乙胺,而

其他 4 种生物胺的水平则接近或低于检出限。在检出的 4 种生物胺中,无论任何一种生物胺,其水平均要明显低于酱油样品。与在酱油样品上发现的规律类似,采用 Dans-Cl 和 Benz-Cl 制备的生物胺衍生物显示了高稳定性,在室温下存放 48 h 内均未发现显著降解,而采用 Fmoc-Cl 制备的生物胺衍生物则很不稳定,组胺衍生物在衍生后的第 24 h 就已降解至低于检出限的水平,而腐胺、酪胺和 β -苯乙胺的衍生物在室温下放置 48 h 后则分别降解了 29%、50%和 20%。此外,采用 Dabs-Cl 制备的组胺衍生物在室温下放置 48 h 后也显示了 8%的显著降解。

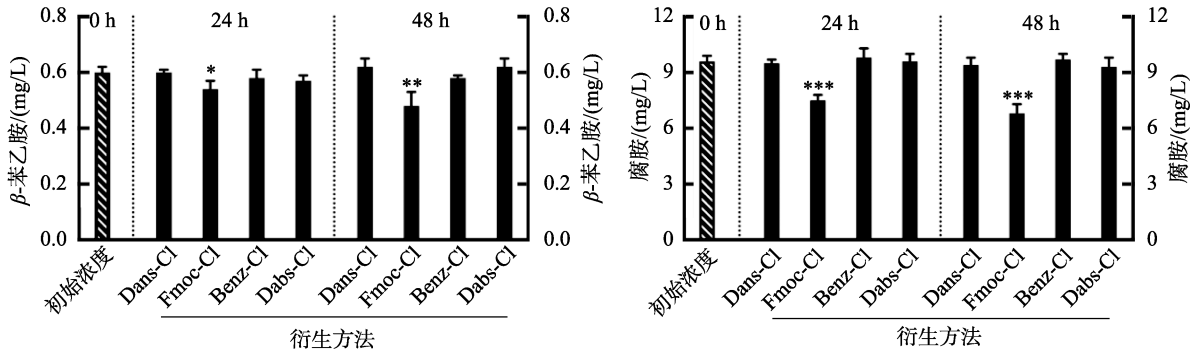
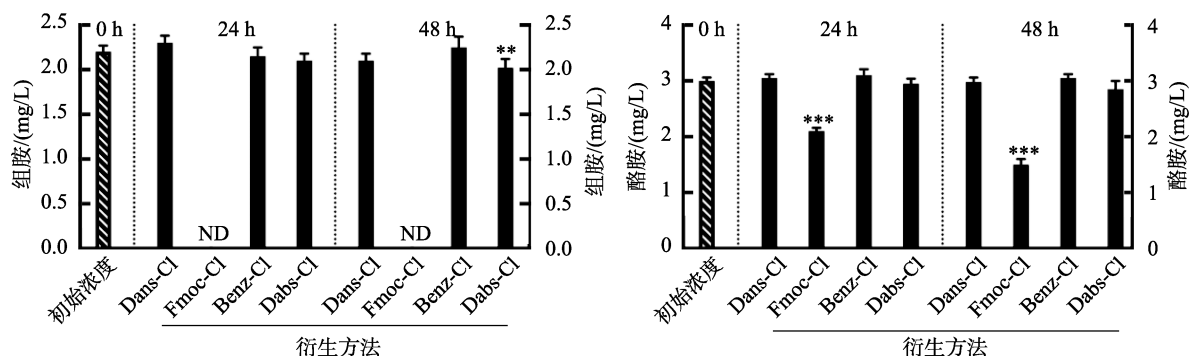


图 4 采用 4 种不同衍生剂制备的干红葡萄酒中生物胺衍生物在室温下的稳定性比较($n=3$)

Fig.4 Comparison of stability of biogenic amine derivatives in dry red wine prepared with 4 kinds of different derivatives at room temperature ($n=3$)

图 4(续) 采用 4 种不同衍生剂制备的干红葡萄酒中生物胺衍生物在室温下的稳定性比较($n=3$)Fig.4 Comparison of stability of biogenic amine derivatives in dry red wine prepared with 4 kinds of different derivatives at room temperature ($n=3$)

3 结 论

在高效液相色谱法检测酱油和葡萄酒中生物胺水平的过程中, Dansyl-Cl 衍生显示了明显的技术优势, 制备的生物胺衍生物不仅在反相 C_{18} 色谱柱上显示了良好的色谱峰形和分离, 而且还具有高稳定性, 故适合采用批处理程序在高效液相色谱仪上进行自动分析。相比之下, Fmoc-Cl、Dabs-Cl 和 Benz-Cl 衍生均存在制备的部分生物胺衍生物不稳定的问题, 这制约了在高效液相色谱仪上使用批处理程序对生物胺进行准确定量分析。本研究发现食品基质对衍生物稳定性仅有轻微影响, 因此本研究的结论具有潜在外推到其他食品中生物胺分析的可能性。

参考文献

- [1] SPANO G, RUSSO P, LONVAUD-FUNEL A, *et al.* Biogenic amines in fermented foods [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2010, 64: 95–100.
- [2] JAGUEY HY, AGUILAR AK, OJEDA RD, *et al.* Biogenic amines levels in food processing: Efforts for their control in foodstuffs [J]. *Food Res Int*, 2021, 144: 110341.
- [3] LINARES DM, DEL RB, REDRUELLO B, *et al.* Comparative analysis of the *in vitro* cytotoxicity of the dietary biogenic amines tyramine and histamine [J]. *Food Chem*, 2016, 197: 658–663.
- [4] WOJCIK W, LUKASIEWICZ M, PUPPEL K. Biogenic amines: Formation, action and toxicity-A review [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(7): 2634–2640.
- [5] SANTOS MHS. Biogenic amines: Their importance in foods [J]. *Int J Food Microbiol*, 1996, 29(2-3): 213–231.
- [6] KVASNICKA F, VOLDRICH M. Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1103(1): 145–149.
- [7] SUN XH, YANG XR, WANG EK. Determination of biogenic amines by capillary electrophoresis with pulsed amperometric detection [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1005(1-2): 189–195.
- [8] CARELLI D, CENTONZE D, PALERMO C, *et al.* An interference free amperometric biosensor for the detection of biogenic amines in food

products [J]. *Biosens Bioelectron*, 2007, 23(5): 640–647.

- [9] TELSNIG D, TERZIC A, KRENN T, *et al.* Development of a voltammetric amine oxidase-modified biosensor for the determination of biogenic amines in food [J]. *Int J Electrochem Sci*, 2012, 7(8): 6893–6903.
- [10] HUANG Y, SONG Y, CHEN F, *et al.* Simultaneous determination of eight biogenic amines in the traditional Chinese condiment Pixian Douban using UHPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2021, 353: 129423.
- [11] ZHANG X, FANG C, HUANG D, *et al.* Determination of 8 biogenic amines in aquatic products and their derived products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry without derivatization [J]. *Food Chem*, 2021, 361: 130044.
- [12] LI J, GUAN RF, WEI XM, *et al.* Detection of ten biogenic amines in Chinese commercial soybean paste by HPLC [J]. *Int J Food Prop*, 2018, 21(1): 1344–1350.
- [13] YUE CS, SELVI C, TANG AN, *et al.* Determination of biogenic amines in Malaysian traditional wine by high-performance liquid chromatography (HPLC) [J]. *Anal Lett*, 2021, 54(12): 1968–1994.
- [14] AN D, CHEN Z, ZHENG J, *et al.* Determination of biogenic amines in oysters by capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence [J]. *Food Chem*, 2015, 168: 1–6.
- [15] FRANCISCO KCA, BRANDAO PF, RAMOS RM, *et al.* Salting-out assisted liquid-liquid extraction with dansyl chloride for the determination of biogenic amines in food [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2020, 55(1): 248–258.
- [16] HARDUF Z, NIR T, JUVEN BJ. High-performance liquid chromatography of biogenic amines, derivatized with 9-fluorenylmethyl chloroformate [J]. *Chin J Chromatogr*, 1988, 437(2): 379–386.
- [17] AFLAKI F, GHOULIPOUR V, SAEMIAN N, *et al.* A simple method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography [J]. *Anal Methods UK*, 2014, 6(5): 1482–1487.
- [18] ZARGHAMPOUR F, YAMINI Y, BAHARFAR M, *et al.* Electromembrane extraction of biogenic amines in food samples by a microfluidic-chip system followed by dabsyl derivatization prior to high performance liquid chromatography analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1556: 21–28.
- [19] JIA W, ZHANG R, SHI L, *et al.* Effects of spices on the formation of biogenic amines during the fermentation of dry fermented mutton sausage [J]. *Food Chem*, 2020, 321: 126723.
- [20] MAYER H K, FIECHTER G. UHPLC analysis of biogenic amines in

- different cheese varieties [J]. Food Control, 2018, 93: 9–16.
- [21] LIU B, CAO Z, QIN L, *et al.* Investigation of the synthesis of biogenic amines and quality during high-salt liquid-state soy sauce fermentation [J]. LWT-Food Sci Technol, 2020, 133: 109835.
- [22] FILIPE-RIBEIRO L, MILHEIRO J, FERREIRA LC, *et al.* Biogenic amines and polyamines in wines: Does Dekkera/Brettanomyces red wine spoilage increases the risk of intake by consumers? [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, 115: 108488.
- [23] PRETI R, ANTONELLI ML, BERNACCHIA R, *et al.* Fast determination of biogenic amines in beverages by a core-shell particle column [J]. Food Chem, 2015, 187: 555–562.
- [24] BRUECKNER H, FLASSIG S, KIRSCHBAUM J. Determination of biogenic amines in infusions of tea (*Camellia sinensis*) by HPLC after derivatization with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride (Fmoc-Cl) [J]. Amino Acids, 2012, 42(2-3): 877–885.
- [25] 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.
- [26] KRAUSE I, BOCKHARDT A, NECKERMANN H, *et al.* Simultaneous determination of amino-acids and biogenic-amines by reversed-phase high-performance liquid-chromatography of the dansyl derivatives [J]. J Chromatogr A, 1995, 715(1): 67–79.
- [27] PLOTKA-WASYLKA JM, MORRISON C, BIZIUK M, *et al.* Chemical derivatization processes applied to amine determination in samples of different matrix composition [J]. Chem Rev, 2015, 115(11): 4693–4718.
- [28] JIA S, KANG YP, PARK JH, *et al.* Simultaneous determination of 23 amino acids and 7 biogenic amines in fermented food samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(51): 9174–9182.
- [29] LU Z, VEENING H, COUTANT JE. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry studies of 9-fluorenylmethyl chloroformate derivatives of polyamines [J]. J Chromatogr A, 1991, 540: 199–206.
- [30] WIDNER B, SOULE MCK, FERRER-GONZALEZ FX, *et al.* Quantification of amine- and alcohol-containing metabolites in saline samples using pre-extraction benzoyl chloride derivatization and ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC MS/MS) [J]. Anal Chem, 2021, 93(11): 4809–4817.
- [31] LKHAGVA A, SHEN CC, LEUNG YS, *et al.* Comparative study of five different amine-derivatization methods for metabolite analyses by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2020, 1610: 460536.
- [32] LU YM, CHEN XH, JIANG M, *et al.* Biogenic amines in Chinese soy sauce [J]. Food Control, 2009, 20(6): 593–597.
- [33] PALOMINO VM, ISABEL CAM, MORADN, *et al.* Biogenic amines profile in red wines regarding aging and storage conditions [J]. J Food Comp Anal, 2019, 83: 103295.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



杨 静, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为农产品质量安全检测和农业标准化体系建设。

E-mail: 108989614@qq.com



郭春锋, 博士, 教授, 主要研究方向为益生菌科学与技术。

E-mail: gcf@nwafu.edu.cn