

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241018004

引用格式: 周朗君, 陈钦, 李秀英. 丹磺酰氯柱前衍生-反相高效液相色谱法同时测定水产品中 9 种生物胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 24-31.

ZHOU LJ, CHEN Q, LI XY. Simultaneous determination of 9 kinds of biogenic amines in aquatic products by dansyl chloride precolumn derivatization-reverse phase high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 24-31. (in Chinese with English abstract).

丹磺酰氯柱前衍生-反相高效液相色谱法 同时测定水产品中 9 种生物胺

周朗君^{1,2}, 陈钦^{1,2}, 李秀英^{1,2*}

[1. 广州检验检测认证集团有限公司, 广州 511447; 2. 国家加工食品质量检验检测中心(广东), 广州 511447]

摘要: **目的** 建立丹磺酰氯柱前衍生-反相高效液相色谱法同时检测水产品中 9 种生物胺的检测方法。**方法** 采用 5%三氯乙酸水溶液提取, 10 mg/mL 丹磺酰氯丙酮溶液衍生, 氨水终止衍生反应, 乙腈定容获得 9 种生物胺的丹磺酰氯衍生物待测溶液。试样溶液通过反相液相色谱检测, 以乙腈和水为流动相梯度洗脱, 采用 C₁₈ 色谱柱分离, 紫外检测器在 254 nm 下检测。**结果** 水产品中 9 种生物胺的定量限在 1.08~7.59 mg/kg, 加标回收率在 85.2%~106.7%, 精密度在 1.5%~4.9%。采用所建立的方法测定广州市售的 50 批次高组胺鱼类, 结果发现, 广州市售的高组胺鱼类质量整体较好, β -苯乙胺和尸胺相对其他生物胺有较高检出率, 但含量均低于 35 mg/kg, 色胺、组胺、章鱼胺、亚精胺、精氨酸均为未检出。**结论** 该方法快速、简便、灵敏度高, 适用于水产品中 9 种生物胺的批量样品测定。

关键词: 丹磺酰氯; 柱前衍生; 反相高效液相色谱法; 水产品; 生物胺

Simultaneous determination of 9 kinds of biogenic amines in aquatic products by dansyl chloride precolumn derivatization-reverse phase high performance liquid chromatography

ZHOU Lang-Jun^{1,2}, CHEN Qin^{1,2}, LI Xiu-Ying^{1,2*}

[1. Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511447, China;
2. National Quality Testing Center for Processed Food (Guangdong), Guangzhou 511447, China]

ABSTRACT: Objective To establish a detection method for simultaneously detecting 9 kinds of biogenic amines in aquatic products using the dansyl chloride precolumn derivatization-reverse phase high performance liquid chromatography. **Methods** The samples were extracted with a 5% trichloroacetic acid solution and derivatized with a 10 mg/mL dansyl chloride acetone solution. The derivatization reaction was terminated with ammonia, and the resulting solution containing the dansyl chloride derivatives of the 9 kinds of biogenic amines was made up to volume

收稿日期: 2024-10-18

基金项目: 广州检验检测认证集团有限公司科技项目(2019kj07GZ)

第一作者: 周朗君(1991—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全分析检测。E-mail: 1533846242@qq.com

*通信作者: 李秀英(1984—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全分析检测。E-mail: 328444798@qq.com

with acetonitrile. The sample solution was analyzed by reverse phase liquid chromatography using a C_{18} column, with a mobile phase gradient of acetonitrile and water, and detected at 254 nm using a ultraviolet detector. **Results** The limits of quantitation of the 9 kinds of biogenic amines in aquatic products ranged from 1.08 to 7.59 mg/kg, with recovery rates ranging from 85.2% to 106.7% and precision ranging from 1.5% to 4.9%. The established method was used to analyze 50 batches of high-histamine fish sold in Guangzhou. The results revealed that the overall quality of the high-histamine fish in Guangzhou was good. β -phenylethylamine and cadaverine had relatively higher detection rates compared to other biogenic amines, but their content was all below 35 mg/kg. Histamine, putrescine, spermidine, agmatine, and arginine were not detected. **Conclusion** The method is fast, simple, and highly sensitive, making it suitable for batch sample determination of the 9 kinds of biogenic amines in aquatic products.

KEY WORDS: dansyl chloride; precolumn derivatization; reverse phase high performance liquid chromatography; aquatic product; biogenic amine

0 引言

生物胺, 是一组在生物体内扮演重要角色的含氮有机化合物, 通常具有低分子量且呈碱性^[1-2], 包括但不限于色胺、 β -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、章鱼胺、酪胺、亚精胺和精胺等^[3]。生物胺广泛分布于多种食品中, 尤其是蛋白质含量较高的食品, 如各类水产品(包括鱼和虾的加工制品)、肉类、以及酒类(葡萄酒、啤酒、黄酒等)和调味品(醋和酱油)等^[4-5]。生物胺的生成机制为: 在食品的加工和储存过程中, 食品中的微生物产生的脱羧酶催化食品中的氨基酸发生脱羧反应生成了生物胺^[6-8]。虽然生物胺在人体生理调节中发挥着关键作用, 但一旦摄入过多的生物胺, 则会产生头晕、恶心、呕吐等过敏症状^[9-10], 因此, 欧盟^[11]、美国^[12]和中国都明确规定了食品中生物胺的限量值, 例如美国食品和药物管理局(food and drug administration, FDA)要求水产品中的组胺低于 50 mg/kg, 欧盟要求不超过 100 mg/kg, 我国 GB 2733—2015《食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品》规定高组胺鱼类组胺含量不得超过 40 mg/100 g, 其他海水鱼类不超过 20 mg/100 g, 我国的 GB 7098—2015《食品安全国家标准 罐头食品》鱼类罐头(仅适用于鲈鱼、鲡鱼、沙丁鱼)组胺限量标准为 100 mg/100 g。

目前, 测定生物胺含量的主要方法有高效液相色谱法^[13-16]、高效液相色谱-串联质谱法^[17-20]、气相色谱法^[21-22]、气相色谱-串联质谱法^[23]、离子色谱法^[24-26]、分光光度法^[27-28]、薄层色谱法^[29-30]等。高效液相色谱-串联质谱法、气相色谱-串联质谱法的样品前处理无需衍生步骤, 分析时间短, 但设备较为昂贵, 运行维护成本较高; 气相色谱法对待测目标物具有局限性, 只能检测挥发性生物胺, 对于非挥发性生物胺需要进行衍生化再检测; 离子色谱法容易受金属离子的干扰, 只能检测部分生物胺; 分光光度法灵敏度较低, 且容易受到其他吸光物质的干扰; 薄层色谱法仅为半定量检测方法, 准确性较差。液相色谱法是国内外定量检测食品中生物胺最常用的方法, GB 5009.208—2016《食品安全

国家标准 食品中生物胺的测定》(第一法 液相色谱法)中, 前处理步骤复杂、耗时长、检出限高且重复性较差, 难以满足大批量样品的日常检测需求; 此外, 该提取方法中多次氮吹步骤易造成生物胺损失, 使得加标回收率较低, 影响了实验结果的准确性。因此, 一种前处理步骤简单, 灵敏度较高, 重复性好, 适用于批量样品检验的方法亟待被开发。

鉴于此, 本研究通过优化丹磺酰氯柱前衍生生物胺的衍生反应各项条件参数, 建立可同时测定水产品中 9 种生物胺的高效液相色谱法, 并把所建立的方法应用于广州市售的 50 批次高组胺鱼类实际样品检测, 为水产品中多种生物胺的同时检测提供方法依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

50 批次高组胺鱼类(竹荚鱼、马鲛鱼、秋刀鱼、青占鱼), 来源于广州市 21 间市场(菜市场、农贸市场、批发市场)摊档或店铺。

色胺(纯度 98.80%)、 β -苯乙胺(纯度 98.62%)、腐胺盐酸盐(纯度 99.80%)、尸胺盐酸盐(纯度 99.70%)、组胺二盐酸盐(纯度 99.5%)、章鱼胺盐酸盐(纯度 100.00%)、酪胺盐酸盐(纯度 99.10%)、亚精胺盐酸盐(纯度 99.90%)、精胺盐酸盐(纯度 98.80%)、1,7-二氨基庚烷(纯度 99.40%)(英国 LGC 公司); 丹磺酰氯(纯度 99%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 三氯乙酸、氢氧化钠、丙酮(分析纯, 广州化学试剂厂); 乙腈(色谱纯, 德国默克公司); 超纯水(由上海乐枫公司超纯水仪制备)。

1.2 仪器与设备

U3000 高效液相色谱仪(带二极管阵列检测器, 美国赛默飞世尔科技公司); BT125D 十万分之一分析天平(德国赛多利斯公司); ME2002E 百分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Direct-Pure UP10 超纯水仪(上海乐枫公司);

SW22 恒温振荡水浴(德国优莱博公司); 3-30K 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); T25N-18G 分散均质机(德国 IKA 公司); C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国飞诺美公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 生物胺标准溶液的配制和衍生

分别准确称取 β-苯乙胺、腐胺盐酸盐、尸胺盐酸盐、组胺二盐酸盐、章鱼胺盐酸盐、酪胺盐酸盐、亚精胺盐酸盐、精胺盐酸盐标准品 15~20 mg 于 10 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解并定容, 折算盐酸盐的质量后(其中 β-苯乙胺无需折算), 分别配制得 8 种生物胺标准储备液(1000 mg/L), 避光 4 °C 冷藏保存 1 个月。准确称取色胺标准品 10 mg 至 10 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并定容至刻度, 配制得色胺标准储备液(1000 mg/L), 避光 4 °C 冷藏保存 1 个月。

准确称取 100 mg 1,7-二氨基庚烷内标物于 10 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解并定容至刻度, 配制得 1,7-二氨基庚烷内标储备溶液(10 mg/mL)。

分别准确吸取适量 9 种生物胺标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 加入 10 mg/mL 的 1,7-二氨基庚烷内标储备液 125 μL, 用超纯水定容到 10 mL, 配制得质量浓度为 1、10、25、50、100 mg/L(含内标 125 mg/L)的生物胺标准工作溶液, 临用现配。

取 300 μL 各质量浓度生物胺标准溶液于 2 mL 离心管中, 加入 40 μL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液。避光条件下进行衍生反应, 加入 600 μL 10 mg/mL 丹磺酰氯丙酮溶液, 涡旋混匀, 40 °C 下衍生反应 20 min, 加入 100 μL 氨水终止衍生反应, 涡旋混匀, 避光静置 30 min, 加入 460 μL 乙腈, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 有机相滤膜到进样瓶待上机。

1.3.2 样品的提取和衍生

取水产品样品的可食部分充分均质。准确称取 5.0 g(精确至 0.01 g)样品于 50 mL 塑料离心管中, 加入 312.5 μL 10 mg/mL 的 1,7-二氨基庚烷内标溶液, 加入 12 mL 5%三氯乙酸水溶液涡旋提取 2 min, 4000 r/min 离心 2 min, 转移上清液至 25 mL 棕色容量瓶中, 再加入 10 mL 5%三氯乙酸水溶液到上述 50 mL 塑料离心管中重复提取一次, 合并上清液, 用 5%三氯乙酸水溶液定容至 25 mL 棕色容量瓶刻度, 混合均匀后, 取少量过膜备用。

取 300 μL 上述过膜样品溶液于 2 mL 离心管中, 加入 40 μL 2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 9.5 左右, 再加入 600 μL 10 mg/mL 丹磺酰氯丙酮衍生溶液, 涡旋混匀, 40 °C 下衍生反应 20 min, 加入 100 μL 氨水终止衍生反应, 涡旋混匀, 避光静置 30 min, 加入 460 μL 乙腈, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 有机相滤膜到进样瓶待上机。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 液相洗脱程序: 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 水, 流速: 0.8 mL/min, 液相梯

度洗脱程序如表 1 所示; 紫外波长: 254 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 35 °C。

表 1 梯度洗脱程序表
Table 1 Table of gradient elution program

组成	时间/min					
	0.00	22.00	25.00	32.00	32.01	37.00
流动相 A/%	58	78	90	90	58	58
流动相 B/%	42	22	10	10	42	42

1.4 数据处理

通过赛默飞公司的 U3000 液相色谱仪配套数据处理软件 Chromeleon 7 工作站系统进行数据采集及定量分析, 再利用 WPS Office 2022 软件进行数据分析和参数优化条形图绘制, 利用 Origin 2021 进行色谱图绘制。所有参数优化实验数据均设置 3 组平行并计算标准偏差, 方法的加标回收率及精密度的试验设置 6 组平行并计算标准偏差。

2 结果与分析

2.1 生物胺衍生条件的确定

2.1.1 丹磺酰氯质量浓度的确定

影响衍生反映完全程度的最重要因素之一是丹磺酰氯衍生剂的用量, 为了优化丹磺酰氯的质量浓度, 本研究使用 300 μL 50 mg/L 的 9 种生物胺混合标准溶液(含 125 mg/L 1,7-二氨基庚烷内标)分别添加 600 μL 质量浓度为 1、3、5、8、10 mg/mL 的丹磺酰氯丙酮溶液进行探究。每个丹磺酰氯浓度点重复实验 3 次, 丹磺酰氯与生物胺的衍生物峰面积大小能反映衍生反应的完全程度。分析丹磺酰氯质量浓度对生物胺衍生物生成量的影响, 结果见图 1, 9 种生物胺和 1,7-二氨基庚烷内标衍生物的生成量变化趋势不尽相同, 为使衍生反应彻底进行, 综合考虑所有生物胺的衍生完全程度, 选择丹磺酰氯的质量浓度为 10 mg/mL。

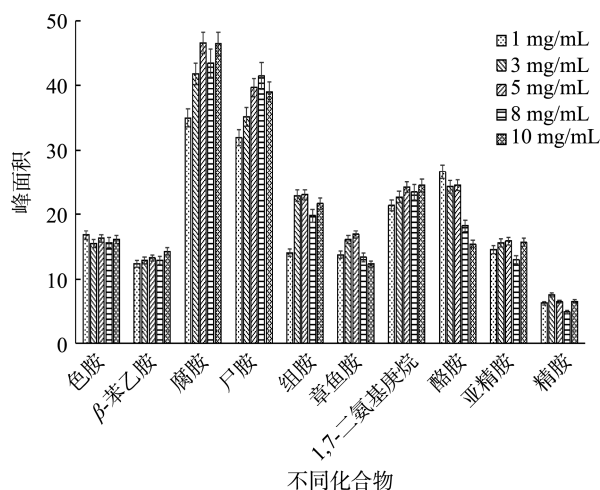


图1 丹磺酰氯质量浓度对生物胺衍生物生成量的影响(n=3)

Fig.1 Effects of dansyl chloride concentrations on formation of biogenic amine derivatives (n=3)

2.1.2 衍生反应 pH 的确定

生物胺与丹磺酰氯的衍生反应发生在碱性条件下,使用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节反应体系 pH, 分别调节到 8.0、8.5、9.0、9.5、10.0。每个 pH 在重复性条件下进行 3 次平行实验, 探究衍生反应体系 pH 对生物胺衍生物生成量的影响, 结果见图 2, 生物胺衍生物的峰面积在 pH 8.0~9.0 基本没有变化, 当 pH 调节至 9.5 时, 生物胺衍生物的峰面积最大, 此时对应 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液的使用体积为 40 μ L。当 pH 继续增大至 10.0 时, 生物胺衍生物的生成量下降, 因此将衍生反应的 pH 确定为 9.5。

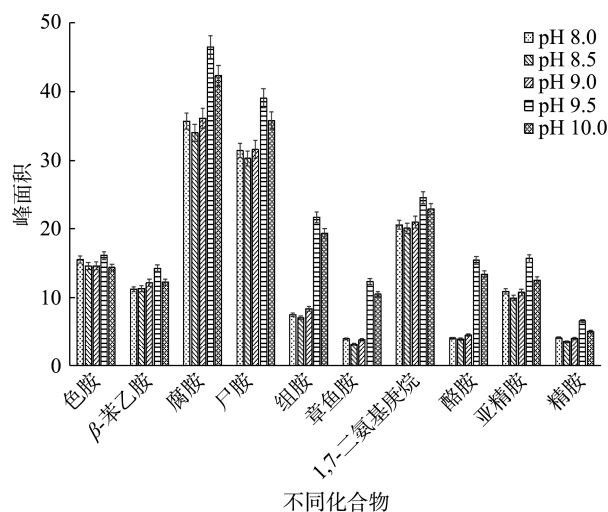


图2 衍生反应pH对生物胺衍生物生成量的影响($n=3$)
Fig.2 Effects of derivative reaction pH on formation of biogenic amine derivatives ($n=3$)

2.1.3 衍生反应温度的确定

探究衍生反应温度对反应完全程度的影响, 温度分别设在 30、40、50、60、70 $^{\circ}$ C。每个温度点在重复性实验条件下平行实验 3 次, 探究衍生反应体系的温度对生物胺衍生物生成量的影响, 结果见图 3, β -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺衍生物的生成量随着温度的上升先增后降, 反应温度达到 40 $^{\circ}$ C 时, 生物胺衍生物的峰面积最大; 章鱼胺、酪胺、亚精胺、精胺衍生物的生成量随着温度的上升而持续下降, 反应温度在 30 $^{\circ}$ C 时, 生物胺衍生物的生成量最大。综合考虑 9 种生物胺的衍生情况, 确定最优的衍生反应温度为 40 $^{\circ}$ C。

2.1.4 衍生反应时间的确定

将衍生反应时间分别设定为 10、20、30、40、50、60 min, 每个时间点重复性实验条件下实验 3 次。探究衍生反应时间对生物胺衍生物生成量的影响, 结果见图 4, 反应时间达到 20 min 时, 除章鱼胺、酪胺外, 其余 7 种生物胺衍生物的生成量最大。20 min 后, 生物胺衍生物的生成量随着反应时间增加而逐渐下降, 由此确定最优的衍生反应时间为 20 min。

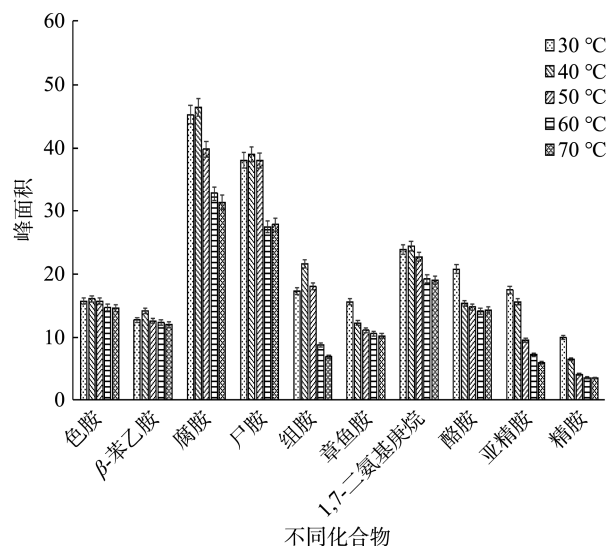


图3 衍生反应温度对生物胺衍生物生成量的影响($n=3$)
Fig.3 Effects of derivative reaction temperature on formation of biogenic amine derivatives ($n=3$)

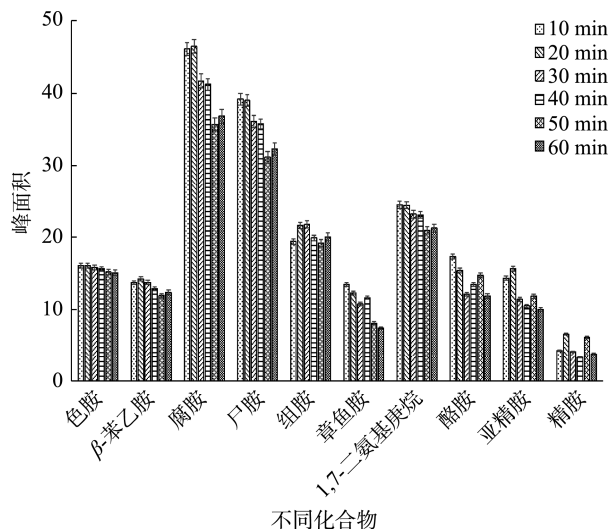


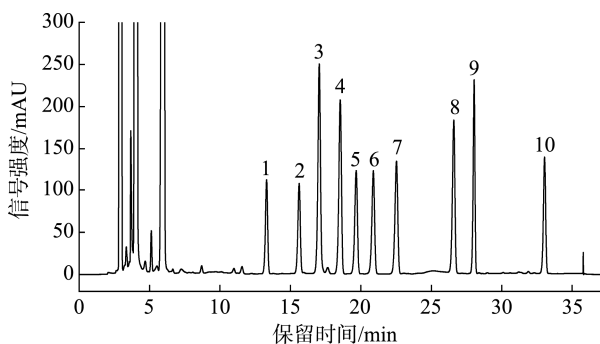
图4 衍生反应时间对生物胺衍生物生成量的影响($n=3$)
Fig.4 Effects of derivative reaction time on formation of biogenic amine derivatives ($n=3$)

以上结果表明, 衍生反应的最优条件为丹磺酰氯衍生剂质量浓度 10 mg/mL、pH 9.5、温度 40 $^{\circ}$ C 和反应时间 20 min。

2.2 色谱图与标准工作曲线

根据上述条件优化实验确定的最优衍生反应条件以及色谱条件进样液相色谱分析, 50 mg/L 生物胺标准品的色谱图如图 5 所示, 9 种生物胺和 1,7-二氨基庚烷内标的峰形均良好, 9 种生物胺的保留时间见表 2。分别配制质量浓度为 1、10、25、50、100 mg/L (含内标 125 mg/L) 的生物胺标准溶液, 按 1.3.1 中的衍生方法与 1.3.3 中的色谱条件进行测定, 以各种生物胺与 1,7-二氨基庚烷内标的色谱峰面积比值(Y)为纵坐标, 以对应的生物胺含量(X , mg/L)为横坐标

标, 绘制标准工作曲线。9 种生物胺标准溶液在 1~100 mg/L 范围内, 标准曲线线性关系良好, r^2 均在 0.9991 以上, 9 种生物胺的线性回归方程详见表 2。



注: 1: 色胺; 2: 苯乙胺; 3: 腐胺; 4: 尸胺; 5: 组胺; 6: 章鱼胺;
7: 1,7-二氨基庚烷; 8: 酪胺; 9: 亚精胺; 10: 精胺; 图6同。

图5 9种生物胺标准溶液(50 mg/L)和1,7-二氨基庚烷内标溶液(125 mg/L)的色谱图

Fig.5 Chromatogram of 9 kinds of biogenic amines standard solution (50 mg/L) and 1,7-diaminoheptane internal standard solution (125 mg/L)

2.3 检出限和定量限

选取鱼肉阴性样品, 添加含量为 5 mg/kg 的标准溶液, 按照 1.3.2 的方法提取和衍生后, 按照 1.3.3 的色谱条件上机检测。以信噪比 $S/N=3$ 计算获得的含量为检出限, 信噪比 $S/N=10$ 计算获得的含量为定量限, 9 种生物胺的检出限和定量限信息详见表 2。结果显示, 本研究方法的 9 种生物胺检出限在 0.32~2.28 mg/kg, 定量限在 1.08~7.59 mg/kg, 相较于 GB 5009.208—2016 液相色谱法的检出限 20 mg/kg 和定量限 50 mg/kg, 本研究方法在灵敏度上有显著提高。

2.4 方法的加标回收率和精密度

选择竹荚鱼、马鲛鱼、秋刀鱼、青占鱼阴性鱼肉样品做 9 种生物胺的加标回收实验, 添加定量限 1、2、5 倍的 9 种生物胺, 在重复性实验条件下平行实验 6 次, 方法的加标回收率和精密度详见表 3, 空白样品色谱图与加标样品色谱图见图 6。

9 种生物胺的加标回收率在 85.2%~106.7%之间, 精密度在 1.5%~4.9%之间。方法的加标回收率和精密度能满足方法学的验证要求, 可适用于日常实验的批量测定。

表 2 9 种生物胺的线性范围、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitation of 9 kinds of biogenic amines

化合物	保留时间/min	线性方程	r^2	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
色胺	13.3	$Y=2.1263X-1.0603$	0.9992	0.93	3.10
β -苯乙胺	15.6	$Y=2.1228X-2.2119$	0.9993	1.05	3.51
腐胺	17.0	$Y=4.2678X-2.2157$	0.9998	0.32	1.08
尸胺	18.5	$Y=3.7806X-2.5078$	0.9995	0.38	1.28
组胺	19.7	$Y=2.1383X+1.5954$	0.9999	0.69	2.31
章鱼胺	20.9	$Y=2.1103X+1.4512$	0.9991	1.22	4.06
酪胺	26.6	$Y=2.2038X+1.9809$	0.9995	0.97	3.25
亚精胺	28.0	$Y=2.1319X+1.8553$	0.9995	0.96	3.19
精胺	33.0	$Y=2.0865X+1.5730$	0.9992	2.28	7.59

表 3 9 种生物胺的加标回收率和精密度(%, $n=6$)

Table 3 Adding standard recoveries and precisions of 9 kinds of biogenic amines (%, $n=6$)

化合物	1 倍定量限		2 倍定量限		5 倍定量限	
	加标回收率	RSDs	加标回收率	RSDs	加标回收率	RSDs
色胺	89.6~103.5	2.8~4.6	87.8~104.6	2.3~4.4	88.6~105.8	2.9~4.0
β -苯乙胺	86.5~105.4	2.6~4.5	87.8~102.1	2.6~4.9	90.9~103.6	2.2~4.7
腐胺	87.5~104.6	1.5~3.6	86.3~105.7	2.1~4.7	88.1~104.3	2.5~4.9
尸胺	85.2~104.3	1.9~4.7	86.9~105.1	1.9~4.0	89.6~106.5	1.8~4.5
组胺	90.1~102.3	2.7~4.9	87.9~102.6	2.4~4.6	89.5~102.4	2.0~4.8
章鱼胺	92.1~105.2	1.8~4.5	92.7~106.7	1.9~4.8	91.1~105.1	2.2~4.6
酪胺	90.8~103.5	2.1~4.6	91.2~103.2	3.2~4.9	92.2~103.4	3.1~4.8
亚精胺	86.5~102.1	1.9~4.0	85.6~103.5	2.0~4.8	86.9~102.5	1.7~4.6
精胺	92.1~103.5	2.5~4.8	91.2~104.5	2.2~4.6	93.0~104.3	2.4~4.9

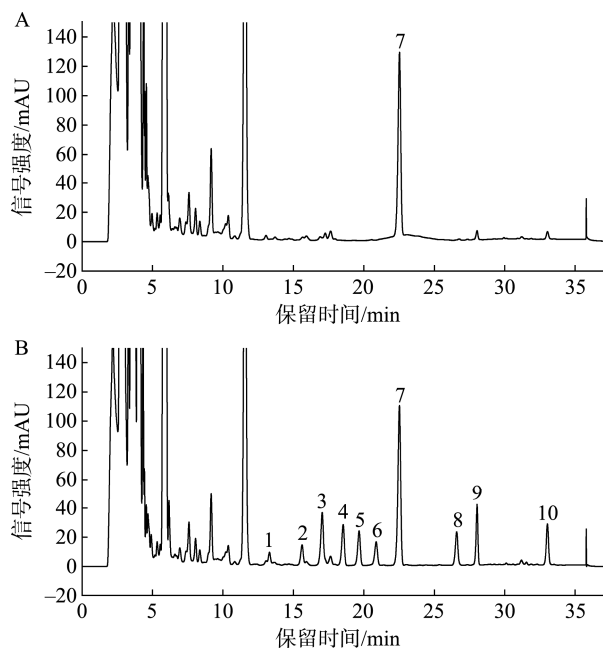


图6 空白样品色谱图(A)和对应样品加标色谱图(B)

Fig.6 Chromatograms of blank sample (A) and the corresponding sample adding with standard (B)

2.5 与国标方法的比对实验

选择竹荚鱼、马鲛鱼、秋刀鱼、青占鱼阴性鱼肉样品各 1 批次, 加入 9 种生物胺各 100 mg/kg, 分别采用本研究方法和 GB 5009.208—2016(第一法 液相色谱法)进行加标回收比对实验, 在重复性实验条件下平行实验 6 次, 两个方法的加标回收率和精密度详见表 4。

在 100 mg/kg 的加标水平下, 9 种生物胺国标的加标回收率在 81.6%~103.8%之间, 精密度在 7.4%~9.8%之间; 本研究方法的加标回收率在 93.0%~104.7%之间, 精密度在 1.9%~3.8%之间。结果显示, 采用 GB 5009.208—2016 与本研究方法做加标回收实验, 加标回收率均落在合理范围, 两个方法的 9 种生物胺含量结果一致。本研究方法的加标回收率比国标法高, 精密度比 GB 5009.208—2016 好, 这是由于本研究方法减少了多次氮吹等复杂的前处理步骤, 使得目标物损失更少、方法更精密。国标法前处理时间长达 300 min, 本研究方法前处理在 80 min 内可完成, 本方法更为简单便捷, 能有效减少前处理时间。

2.6 方法的实际应用

采用该方法测定了 50 批次高组胺鱼类(12 批次竹荚鱼、12 批次马鲛鱼、12 批次秋刀鱼、14 批次青占鱼)中 9 种生物胺的含量。

结果显示, 6 批次马鲛鱼、2 批次青占鱼、11 批次秋刀鱼、6 批次竹荚鱼的 9 种生物胺均未检出, 另外 25 批次的高组胺鱼类样品中至少有一种生物胺检出, 检出情况见表 5。50 批次市售高组胺鱼类中, β -苯乙胺有 15 批次检出, 含量在 24.0~34.1 mg/kg, 青占鱼检出率最高, 其次为竹荚鱼、秋刀鱼; 腐胺有 2 批次检出, 分别为马鲛鱼 1 批次 26.2 mg/kg, 青占鱼 1 批次 16.0 mg/kg; 尸胺有 13 批次检出, 含量在 13.1~32.2 mg/kg, 马鲛鱼检出率最高, 青占鱼其次, 然后是秋刀鱼; 酪胺有 2 批次检出, 含量在 10.0~15.2 mg/kg, 均为马鲛鱼。50 批次高组胺鱼类样品的色胺、组胺、章鱼胺、亚精胺、精胺均为未检出。

表 4 本方法与 GB 5009.208—2016 的比对实验结果(% , n=6)

Table 4 Results of comparison between the GB 5009.208—2016 and this research method (% , n=6)

化合物	GB 5009.208—2016		本研究方法	
	加标回收率	RSDs	加标回收率	RSDs
色胺	82.3~101.3	7.9~9.8	94.6~103.6	2.3~3.1
β -苯乙胺	85.2~102.1	7.4~9.5	94.0~104.2	2.0~3.2
腐胺	81.6~101.0	8.0~9.7	93.9~102.9	1.9~3.8
尸胺	82.9~103.2	7.7~9.6	93.0~104.6	1.9~3.3
组胺	86.5~102.7	7.6~9.4	95.6~103.9	2.5~3.6
章鱼胺	82.5~103.8	7.5~9.6	93.6~103.4	2.3~3.8
酪胺	83.5~102.4	7.4~9.3	94.2~104.7	2.0~3.5
亚精胺	82.4~103.1	7.6~9.7	94.1~104.1	2.3~3.7
精胺	83.4~102.8	8.2~9.8	94.8~103.9	2.4~3.7

表 5 25 批次高组胺鱼类中 9 种生物胺的含量(mg/kg)

Table 5 Content of 9 kinds of biogenic amines in 25 batches of high-histamine fish (mg/kg)

样品名称	色胺	β -苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	章鱼胺	酪胺	亚精胺	精胺
马鲛鱼 1	N.D.	N.D.	N.D.	32.2	N.D.	N.D.	10.0	N.D.	N.D.
马鲛鱼 2	N.D.	N.D.	N.D.	24.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
马鲛鱼 3	N.D.	N.D.	26.2	N.D.	N.D.	N.D.	15.2	N.D.	N.D.

表5(续)

样品名称	色胺	β -苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	章鱼胺	酪胺	亚精胺	精胺
马鲛鱼 4	N.D.	N.D.	N.D.	13.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
马鲛鱼 5	N.D.	N.D.	N.D.	15.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
马鲛鱼 6	N.D.	N.D.	N.D.	15.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 1	N.D.	34.1	N.D.	19.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 2	N.D.	26.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 3	N.D.	25.1	N.D.	18.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 4	N.D.	30.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 5	N.D.	25.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 6	N.D.	26.1	16.0	18.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 7	N.D.	28.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 8	N.D.	26.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 9	N.D.	27.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 10	N.D.	27.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 11	N.D.	N.D.	N.D.	13.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
青占鱼 12	N.D.	27.3	N.D.	13.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
秋刀鱼 1	N.D.	24.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 1	N.D.	N.D.	N.D.	20.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 2	N.D.	N.D.	N.D.	14.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 3	N.D.	N.D.	N.D.	15.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 4	N.D.	28.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 5	N.D.	29.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
竹荚鱼 6	N.D.	29.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

注: N.D.表示未检出。

3 结论

本研究采用丹磺酰氯柱前衍生-反相液相色谱法测定水产品中的 9 种生物胺, 优化确定丹磺酰氯衍生溶液的质量浓度为 10 mg/mL, 衍生反应 pH 为 9.5, 衍生反应温度为 40 °C, 衍生反应时间为 20 min。9 种生物胺的加标回收率在 85.2%~106.7%之间, 精密度在 1.5%~4.9%之间, 方法的加标回收率和精密度能满足方法学的验证要求。方法较 GB 5009.208—2016(第一法 液相色谱法)步骤简便、快速且灵敏度显著提高, 9 种生物胺定量限从 50 mg/kg 下降至 1.08~7.59 mg/kg, 可适用于水产品中 9 种生物胺的批量样品测定。

参考文献

- 张立飞, 孙明浩, 华成黎, 等. 发酵食品中生物胺的形成、检测及其防控策略的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(3): 329-339.
ZHANG LF, SUN MH, HUA CL, *et al.* Research progress on the production, detection and prevention of biogenic amine in fermented food [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(3): 329-339.
- LIU YN, HE YQ, LI H, *et al.* Biogenic amines detection in meat and meat products: The mechanisms, applications, and future trends [J]. Journal of Future Foods, 2024, 4(1): 21-36.
- SILLA-SANTOS MH. Biogenic amines: Their importance in foods [J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29(2/3): 213-231.
- 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.
LIU J, REN J, SUN KJ. Safety of biogenic amines in foods [J]. Food Science, 2013, 34(5): 322-326.
- 蔡琼, 余文琴, 李小琴. 高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱法同时测定液态发酵食品中 14 种生物胺及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(4): 87-97.
CAI Q, YU WQ, LI XQ. Simultaneous determination of 14 kinds of biogenic amines and their metabolites in liquid fermented food by high performance liquid chromatography-triple quadrupole/composite linear ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(4): 87-97.
- 王光强, 俞剑荣, 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 Science, 2016, 37(1): 269-278.
- 冉春霞, 陈光静. 我国传统发酵肉制品中生物胺的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(3): 285-294.
RAN CX, CHEN GJ. Research progress of biogenic amines in Chinese traditional fermented meat products [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(3): 285-294.
- 戴莹, 宋海勇, 吴曦, 等. 肉制品中生物胺的形成、检测和控制研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(11): 89-97.
DAI Y, SONG HY, WU X, *et al.* Recent progress in the formation, detection and control of biogenic amines in meat products [J]. Meat Research, 2020, 34(11): 89-97.
- 肖洪, 丁晓雯, 梁菡峪, 等. 发酵食品中的生物胺及其控制研究进

- 展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 346-350.
- XIAO H, DING XX, LIANG HY, *et al.* Research progress in the biogenic amines and its control measures in fermented food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(20): 346-350.
- [10] LEE S, YOO M, SHIN D. The identification and quantification of biogenic amines in Korean turbid rice wine, Makgeolli by HPLC with mass spectrometry detection [J]. LWT-Food Science Technology, 2015, 62(1): 350-356.
- [11] European Commission. Commission recommendation of 10 January 2003 concerning a coordinated programme for the official control of foodstuffs for 2003 (2003/10/EC) [Z]. 2003.
- [12] USA Food and Drug Administration. CPG Sec. 540.525 Decomposition and histamine raw, frozen tuna and mahi-mahi, canned tuna, and related species [Z].
- [13] 林波, 赵书媛, 王雪. 高效液相色谱串联质谱检测地表水中五种生物胺[J]. 环境与发展, 2020, 8(68): 118-119.
- LIN B, ZHAO SY, WANG X. Determination of five biogenic amines in surface water by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environment and Development, 2020, 8(68): 118-119.
- [14] 董孝元, 冯小进, 李斯琳, 等. 高效液相色谱法测定白酒中6种生物胺的含量[J]. 酿酒, 2023, 50(3): 106-109.
- DONG XY, FENG XJ, LI SL, *et al.* Determination of six biogenic amines in light flavor and luzhou flavor baijiu by high performance liquid chromatography [J]. Liquor Making, 2023, 50(3): 106-109.
- [15] 胡月, 黄志勇. 柱前衍生 HPLC 同时测定鱼中多种生物胺及其变化规律[J]. 中国食品学报, 2012, 12(11): 142-147.
- HU Y, HUANG ZY. Column before derivative HPLC determination of many kinds of biogenic amines in fish at the same time and its change rule [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(11): 142-147.
- [16] 翟红蕾, 杨贤庆, 郝淑贤, 等. 生物胺高效液相色谱法测定条件的选择与优化[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 180-184.
- ZHAI HL, YANG XQ, HAO SX, *et al.* Optimization of operating conditions for HPLC determination of biogenic amines [J]. Food Science, 2011, 32(18): 180-184.
- [17] 高何刚, 林益伟, 高源, 等. 非衍生化-PriME 净化的超高效液相色谱-串联质谱法检测黄酒9种生物胺[J]. 预防医学, 2024, 36(1): 86-88, 90.
- GAO HG, LIN YW, GAO Y, *et al.* Determination of 9 biogenic amines in yellow rice wine by non-derivatization-PriME-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Preventive Medicine Journal, 2024, 36(1): 86-88, 90.
- [18] 吴玉田, 王颖怡, 张权, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定冷冻水产品中生物胺[J]. 分析科学学报, 2023, 39(6): 737-742.
- WU YT, WANG YY, ZHANG Q, *et al.* Determination of biogenic amines in frozen aquatic products by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Science, 2023, 39(6): 737-742.
- [19] 丁涛, 吕辰, 柳菡, 等. 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱检测葡萄酒中8种生物胺[J]. 分析测试学报, 2014, 33(1): 27-32.
- DING T, LV C, LIU H, *et al.* Determination of eight biogenic amines in redwines by liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbit trap mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2014, 33(1): 27-32.
- [20] 王璐, 孙小杰, 耿岳, 等. 非衍生化-QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鱼肉中9种生物胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(3): 269-276.
- WANG L, SUN XJ, GENG Y, *et al.* Rapid determination of 9 kinds of biogenic amines in fish by non-derivatization-QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(3): 269-276.
- [21] KAMANKESH M, ABDORREZA M, KIANDOKHT G. Determination of biogenic amines in Lighvan cheese using a novel hollow-fibre electromembrane-microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. International Journal of Dairy Technology, 2021, 74(4): 759-767.
- [22] 杨静, 王琨, 周元. 气相色谱-电子捕获检测器分析葡萄酒中的8种生物胺[J]. 中国酿造, 2023, 42(2): 228-234.
- YANG J, WANG K, ZHOU Y. Analysis of 8 kinds of biogenic amines in wine by gas chromatography-electron capture detector method [J]. China Brewing, 2023, 42(2): 228-234.
- [23] 温永柱, 范文来, 徐岩. GC-MS 法定性白酒中的多种生物胺[J]. 酿酒, 2013, 140(1): 38-41.
- WEN YZ, FAN WL, XU Y. Identification of a variety of biogenic amines by GC-MS method in China's liquor [J]. Liquor Making, 2013, 140(1): 38-41.
- [24] 宋卫得, 许美玲, 高尧华, 等. 离子色谱法同时测定果汁中20种有机胺、生物胺和阳离子[J]. 分析实验实验室, 2020, 39(5): 590-595.
- SONG WD, XU ML, GAO YH, *et al.* Simultaneous determination of twenty organic amine, biogenic amines and cations in fruit juice by ion chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2020, 39(5): 590-595.
- [25] 李刚, 方团团, 胡忠阳, 等. 离子色谱法测定环境水样中腐胺、尸胺、组胺、精胺、亚精胺[J]. 环境化学, 2014, 33(5): 868-869.
- LI G, FANG TT, HU ZY, *et al.* Determination of putrescine, cadaverine, histamine, spermidine in environmental water samples by ion chromatography [J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(5): 868-869.
- [26] 孙永, 刘楠, 李智慧, 等. 抑制性电导检测-离子色谱法快速测定水产品中的生物胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3992-3997.
- SUN Y, LIU N, LI ZH, *et al.* Determination of biogenic amines in seafood by suppressed conductance detection ion chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(10): 3992-3997.
- [27] KAJA K, MAREK T. Green, simple analytical method for total biogenic amines content determination in wine using spectrophotometry[J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134457.
- [28] 丁海燕, 王联珠, 盛晓风, 等. 非挥发性生物胺对组胺的可见分光光度法检测结果的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 5(4): 17-22.
- DING HY, WANG LZ, SHENG XF, *et al.* Study on the effects of other non-volatile biogenic amines on the histamine value by visible spectrophotometer detection [J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2015, 5(4): 17-22.
- [29] DERGAL NB, DOUNY C, GUSTIN P, *et al.* Monitoring of biogenic amines in tilapia fesh (*Oreochromis niloticus*) by a simple and rapid high-performance thin-layer chromatography method [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2023, 32(1): 23-37.
- [30] ZHANG YM, YU JS, LAI SY, *et al.* Rapid determination of histamine level in seafood using read-out strips based on high-performance thin layer chromatography modified with self-visualization nanomaterials [J]. Food Control, 2021, 122: 107816-107823.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)