

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80588

# 氨基酸分析仪法测定动物性水产品中 8 种生物胺含量

冯洪燕<sup>1,2</sup> 夏永生<sup>1</sup> 钱亮亮<sup>1,2</sup> 陈小娟<sup>1</sup> 周静<sup>1,2</sup>

(1. 连云港市质量技术综合检验检测中心, 江苏 连云港 222000;

2. 江苏省海洋食品质量监督检验中心, 江苏 连云港 222000)

**摘要:** [目的] 解决传统色谱法在测定生物胺时所面临的繁琐手动柱前衍生步骤以及衍生物稳定性差的问题, 以提升检测的效率和准确性。[方法] 利用氨基酸分析仪测定动物性水产品中 8 种生物胺(腐胺、组胺、尸胺、亚精胺、章鱼胺、精胺、酪胺、苯乙胺)含量。动物性水产品试样经磺基水杨酸溶液提取, 高速冷冻离心, 钾盐缓冲液洗脱, 钾离子型磺酸基强酸性阳离子交换色谱柱分离, 130 °C 下茚三酮在线衍生, 570 nm 波长检测, 8 种生物胺采用外标法定量。[结果] 8 种生物胺线性范围为 1.0~50.0 mg/L, 相关系数  $R^2 > 0.9947$ , 检出限为 2.5~5.0 mg/kg、定量限为 8.3~16.7 mg/kg, 3 种基质加标回收率为 62.2%~119.2%, 衍生条件和设备稳定性良好(峰面积 RSD 为 0.43%~3.89%, 保留时间 RSD 为 0.050%~0.334%), 有证质控样品考察结果为满意。[结论] 该方法具有良好的稳定性、灵敏度、回收率和准确度, 快速简便, 适用于动物性水产品中 8 种生物胺含量的检测。

**关键词:** 氨基酸分析仪; 生物胺; 茚三酮; 在线柱后衍生; 水产品

## Quantification of eight biogenic amines in aquatic animal products with amino acid analyzer

FENG Hongyan<sup>1,2</sup> XIA Yongsheng<sup>1</sup> QIAN Liangliang<sup>1,2</sup> CHEN Xiaojuan<sup>1</sup> ZHOU Jing<sup>1,2</sup>

(1. Lianyungang Comprehensive Inspection and Testing Center for Quality and Technology, Lianyungang, Jiangsu 222000, China; 2. Seafood Quality Supervision and Inspection Center of Jiangsu Province, Lianyungang, Jiangsu 222000, China)

**Abstract:** [Objective] To address the cumbersome manual pre-column derivatization steps and poor derivative stability encountered in traditional chromatography when determining biogenic amines, so as to improve the efficiency and accuracy of detection. [Methods] In this study, an amino acid analyzer method is established for the simultaneous determination of eight biogenic amines (i.e., putrescine, histamine, cadaverine, spermidine, octopamine, spermine, tyramine, and phenylethylamine) in aquatic animal products. The aquatic animal product samples are extracted using a sulfosalicylic acid solution, which is followed by high-speed refrigerated centrifugation, elution with potassium salt buffer, separation using a potassium ionic sulfonic acid based strong acid cation exchange chromatographic column, online derivatization with ninhydrin at 130 °C, and detection at 570 nm. [Results] The linear ranges for the eight biogenic amines are 1.0~50.0 mg/L with correlation coefficients ( $R^2$ ) greater than 0.9947. The limits of detection range from 2.5 to 5.0 mg/kg, and the limits of quantification range from 8.3 to 16.7 mg/kg. The spike recovery rates for the three matrices range from 62.2% to 119.2%. The derivatization conditions and equipment stability are satisfactory, with relative standard deviations (RSD) of peak areas ranging from 0.43% to 3.89% and RSD of retention time ranging from 0.050% to 0.334%. [Conclusion] This developed method exhibits excellent stability, sensitivity, recovery, and accuracy. It is a rapid and simple approach for the detection of the eight biogenic amines in aquatic animal products.

**Keywords:** amino acid analyzer; biogenic amines; ninhydrin; online post-column derivatization; aquatic products

基金项目: 江苏省市场监管局科技计划项目(编号: KJ21125123, KJ2023065)

通信作者: 周静(1970—), 女, 连云港市质量技术综合检验检测中心正高级工程师, 硕士。E-mail: zhoujing158@163.com

收稿日期: 2024-06-25 改回日期: 2025-01-25

动物性水产品中富含多种氨基酸组分,死亡后极易滋生微生物,且氨基酸通过微生物分解及脱羧基反应会产生大量生物胺,导致其腐败变质,而过量生物胺引发的食物中毒事件时有发生<sup>[1]</sup>。生物胺是小分子含氮化合物,普遍存在于各种食品中<sup>[2]</sup>,在动物性水产品中的存在尤为显著<sup>[3]</sup>。目前,组胺已被公认为毒性最大的生物胺,国内外制定了其限量要求;此外,酪胺、苯乙胺被确认为具有较强的毒理作用的生物胺,尸胺、腐胺和色胺等生物胺的大量存在不仅产生难闻的气味,还具有一定的危害性<sup>[4]</sup>。

目前,常见的生物胺分析方法为色谱方法<sup>[5-6]</sup>,主要包括高效液相色谱法(HPLC)<sup>[7-8]</sup>和高效液相色谱—串联质谱法(HPLC-MS/MS)<sup>[9-10]</sup>,两种方法均具有较高的准确度和灵敏度。高效液相色谱法在 GB 5009.208—2016 中被作为第一法,该法以丹磺酰氯作为衍生剂,对含生物胺的样品进行柱前手动衍生处理,操作步骤繁琐、耗时较长,且衍生产物不稳定,试验数据的稳定性较差。液相色谱串联质谱法具有准确性高和效率高的优点,但设备成本较高。生物胺本身在可见和紫外光波长范围内无明显吸收,也没有荧光基团,因此在检测前需要进行处理使其衍生化后再进行仪器分析<sup>[11]</sup>。生物胺的前体为游离的氨基酸,是由氨基酸发生脱羧基反应后生成的,生物胺的化学结构与氨基酸的类似,携带的氨基在一定条件下可以与茚三酮发生衍生反应生成蓝紫色物质,最大吸收波长为 570 nm<sup>[12]</sup>。研究拟以氨基酸分析仪为主要设备,采用阳离子交换色谱柱分离水产品中的生物胺,采用自动在线柱后衍生方式,以期解决传统色谱法在测定生物胺时所面临的繁琐手动柱前衍生步骤以及衍生物稳定性差的问题,提升检测的效率和准确性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

磺基水杨酸:分析纯,美国默克公司;  
石油醚:色谱纯,成都市科隆化学品有限公司;  
乙腈:色谱纯,北京迈瑞达科技有限公司;  
异丙醇:色谱纯,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;  
柠檬酸、硼酸、EDTA、三水合乙酸钠、乙酸钾:分析纯,广东光华科技股份有限公司;  
茚三酮:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;  
抗坏血酸、氢氧化钾、氯化钾:优级纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

组胺盐酸盐(99%)、 $\beta$ -苯乙胺(98%)、腐胺盐酸盐(95%);国药集团化学试剂有限公司;

酪胺盐酸盐、尸胺盐酸盐、章鱼胺盐酸盐:98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

精胺盐酸盐:99.5%,日本 Sigma 集团;

亚精胺盐酸盐:98%,上海麦克林生化科技股份有限公司;

鱼粉中组胺残留量检测质控样品:大连中食国实验检测技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

氨基酸分析仪:S433D 型,赛卡姆(北京)科学仪器有限公司;

超声波清洗机:SB-3200DT 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

恒温混匀器:Matrix Orbital Delta 型,艾卡(广州)仪器设备有限公司;

高速冷冻离心机:KR4i 型,赛默飞世尔科技公司;

电子天平:AL204 型,梅特勒—托利多仪器有限公司;

研磨仪:P11 刀式,北京飞驰科学仪器有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 样品前处理 称取 5 g 样品,加入 50 mL 提取液(5%三氯乙酸、0.1 mol/L 盐酸、4%~8%磺基水杨酸),振荡提取 60 min,冷冻离心,取上清液加入正己烷脱脂,取水相过 0.45  $\mu$ m 滤膜,上机(生物胺质量浓度 5~100 mg/L)检测。

1.3.2 标准溶液的配制 准确称取 8 种生物胺标准品适量(见表 1),分别置于 10 mL 小烧杯中,用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解后定容,配制成质量浓度为 1 000 mg/L(以各种生物胺单体计)的标准储备溶液。分别吸取 1.0 mL 各生物胺单组分标准储备溶液于同一容量瓶中,用 0.1 mol/L 盐酸定容,配制成生物胺标准混合使用液(100 mg/L)。分别吸取 0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.50、5.00 mL 生物胺标准混合使用液(100 mg/L),用缓冲溶液 A 定容,使质量浓度分别为 1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0 mg/L。

#### 1.3.3 缓冲液配制

(1) 缓冲液 A:称取 11.2 g KOH, 14.0 g 柠檬酸, 14.9 g 氯化钾,用超纯水定容至 1 000 mL,用 37% 的 HCl 或 KOH 调节 pH 至 5.75 左右。

(2) 缓冲液 B:称取 16.8 g KOH, 16.0 g 柠檬酸, 164.0 g 氯化钾,用超纯水定容至 1 000 mL,用 37% 的 HCl 或 KOH 调节 pH 至 8.30 左右。

(3) 再生液:称取 33.7 g KOH, 0.2 g EDTA,用超纯水

表1 标准溶液信息

| 标准品    | 单体摩尔质量/<br>(g·mol <sup>-1</sup> ) | 总摩尔质量/<br>(g·mol <sup>-1</sup> ) | 10 mL储备液<br>所需质量/mg |
|--------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| 腐胺盐酸盐  | 88.15                             | 161.07                           | 18.27               |
| 组胺盐酸盐  | 111.14                            | 184.06                           | 16.56               |
| 尸胺盐酸盐  | 102.18                            | 175.10                           | 17.14               |
| 亚精胺盐酸盐 | 145.25                            | 254.63                           | 17.53               |
| 章鱼胺盐酸盐 | 153.18                            | 189.64                           | 12.38               |
| 精胺盐酸盐  | 202.34                            | 348.18                           | 17.21               |
| 酪胺盐酸盐  | 137.18                            | 173.64                           | 12.66               |
| 苯乙胺盐酸盐 | 121.18                            | 157.64                           | 13.01               |

定容到1 000 mL。装瓶后向缓冲液A、B中添加0.1 mL辛酸作为抑菌剂。

1.3.4 衍生剂配制方法及衍生条件 称取茛三酮20 g,加入600 mL甲醇溶解,加入400 mL钾钠缓冲液(乙酸钾78.4 g,三水乙酸钠108.8 g,乙酸80 mL,超纯水定容至400 mL,pH 5.51)、2 mL苯酚,混匀;再加入0.2 g抗坏血酸,混匀,过0.45 μm水相滤膜,转移至棕色试剂瓶中,用氮气从底部吹3~5 min后备用。

### 1.3.5 仪器条件

(1) 衍生条件:茛三酮缓冲溶液衍生时间0~35.0 min,清洗液为异丙醇溶液,反应器温度130 ℃,流速0.25 mL/min。

(2) 色谱柱:生物胺专用分析柱(磺酸钾阳离子交换分离柱,LCA K17,4.6 mm×30 mm,或相当)。温度70 ℃;进样量50 μL;检测波长570 nm,洗脱程序梯度见表2。

## 2 结果与分析

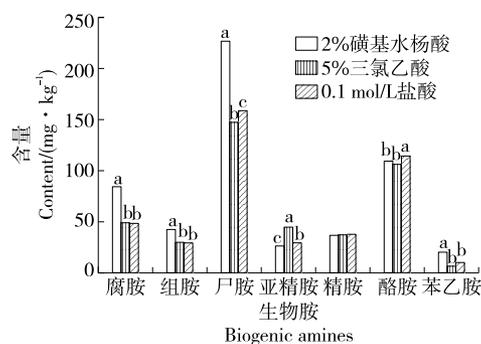
### 2.1 前处理方法优化

2.1.1 提取剂的选择 鲜冻水产品中含有大量的蛋白质、游离氨基酸和脂肪,对含量相对较低的生物胺的检测存在基质干扰,而生物胺易溶于弱酸<sup>[13]</sup>。因此,需选用弱酸性且能去除蛋白质、脂肪等杂质的提取剂。在相同提取时间、提取温度和振荡频率下,考察了5%三氯乙酸、0.1 mol/L盐酸以及2%磺基水杨酸3种提取液对同一产品中生物胺的提取效果。选择样品为均质后的已腐败的泥鳅样品。由图1可知,样品中仅检出7种生物胺,3种提取剂中均未检出章鱼胺。2%磺基水杨酸提取剂测得样品中7种生物胺总含量为538.02 mg/kg;5%三氯乙酸的为416.38 mg/kg;0.1 mol/L盐酸的为427.79 mg/kg。以2%磺基水杨酸作为提取剂时,其对腐胺、组胺、尸胺和苯乙胺

表2 洗脱梯度

| 时间/min | 缓冲液A/% | 缓冲液B/% | 再生液/% | 流速/<br>(mL·min <sup>-1</sup> ) |
|--------|--------|--------|-------|--------------------------------|
| 0.00   | 72.0   | 28.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 0.01   | 72.0   | 28.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 9.00   | 30.0   | 70.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 12.00  | 18.0   | 82.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 16.00  | 18.0   | 82.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 23.00  | 0.0    | 82.0   | 18.0  | 0.500                          |
| 29.00  | 0.0    | 70.0   | 30.0  | 0.500                          |
| 40.00  | 0.0    | 70.0   | 30.0  | 0.500                          |
| 40.02  | 0.0    | 0.0    | 100.0 | 0.500                          |
| 44.00  | 0.0    | 0.0    | 100.0 | 0.500                          |
| 44.02  | 72.0   | 28.0   | 0.0   | 0.500                          |
| 55.00  | 72.0   | 28.0   | 0.0   | 0.500                          |

的检测值显著高于其他两种提取剂( $P<0.05$ );三氯乙酸对亚精胺的提取效果较高,但对生物胺总量的影响较小(增量占总量 $<5\%$ );0.1 mol/L盐酸对酪胺的提取效果较高,但对生物胺总量的影响较小(增量占总量 $<2\%$ ),综上,3种提取剂中,磺基水杨酸的提取效果最优。

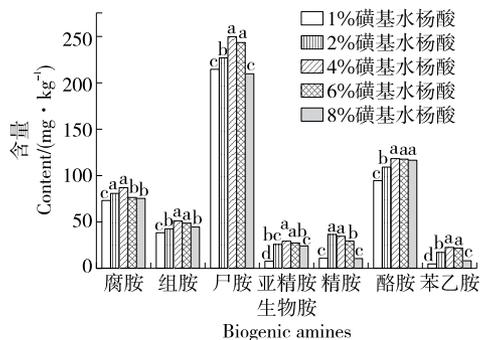


字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )

图1 不同提取剂的提取效果

Figure 1 Extraction effects of different extractants

2.1.2 提取液浓度的选择 磺基水杨酸可以溶解生物胺,同时作为一种较好的蛋白沉淀剂<sup>[14]</sup>,可以较好地去除提取液中的蛋白质。在室温25 ℃、提取时间60 min、振荡频率1 000 r/min下,考察磺基水杨酸溶液浓度(1%,2%,4%,6%,8%)对提取效果的影响,结果如图2所示。由图2可知,4%、6%的磺基水杨酸对腐胺、组胺、尸胺、亚精胺及苯乙胺5种生物胺的提取均有较大的优势,存在显著性差异( $P<0.05$ );2%、4%的磺基水杨酸对精胺的提取有较大的优势;4%、6%、8%的磺基水杨酸对酪胺的提取效



字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 2 不同浓度磺基水杨酸的提取效果

Figure 2 Extraction effects of different concentrations of sulfosalicylic acid

果明显优于 1%, 2% 的。同时过高浓度的酸溶液会缩短阳离子分离柱的使用寿命<sup>[15]</sup>, 故选取磺基水杨酸提取液浓度为 4%。

### 2.2 洗脱液的优化

研究通过缓冲泵设置缓冲液的配比和流速, 产生 pH 值梯度, 避免了分析柱和缓冲液的频繁更换, 并实现了最佳分离效果<sup>[16]</sup>。由图 3 可知, 当洗脱液 A 的 pH 为 5.85 时, 各种生物胺的响应值和峰面积较高, 获得更优的分离度和稳定性。

### 2.3 精密度试验

考察 8 种生物胺的衍生条件和设备稳定性时, 在新鲜草鱼中加入质量浓度均为 1 000 mg/L 的 8 种生物胺混合标准溶液 0.4 mL, 重复 7 次试验, 对峰面积和保留时间进行重复性分析。由表 3 和表 4 可知, 采用茚三酮溶液为衍生剂, 氨基酸分析仪自带衍生系统进行标准溶液衍生后, 标准品峰面积 RSD 为 0.43%~3.89%, 保留时间 RSD 为

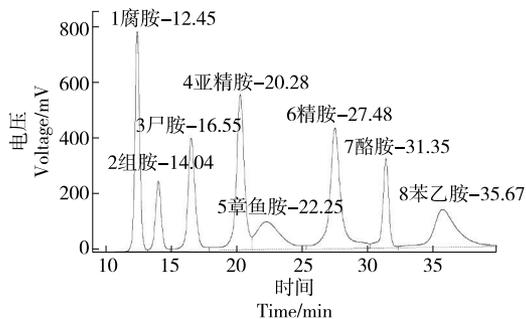


图 3 洗脱液 pH 为 5.85 时的出峰顺序 (组胺在腐胺后)  
Figure 3 Peaking sequence at eluant pH 5.85 (histamine after putrescine)

0.050%~0.334%, 稳定性较好。

### 2.4 线性关系、检出限和定量限试验

使用初始流动相将混合标准溶液稀释成系列质量浓度标准溶液, 用氨基酸分析仪进行检测。以标准工作液质量浓度为横坐标, 各生物胺峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 各分析物标准曲线的相关系数  $R^2 > 0.9947$ , 线性相关性较好。标准曲线色谱图如图 4 所示。

方法的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 是通过空白草鱼样品加入不同浓度的标准工作溶液的方法测定的, 以信噪比  $S/N \geq 3.0$  时的含量为检出限,  $S/N \geq 10.0$  时的含量为定量限。在称样量为 5 g, 提取液体积 50 mL, 进样体积为 50  $\mu$ L 条件下, 测得 8 种生物胺的检出限和定量限如表 5 所示。结果表明, 8 种生物胺的检出限为 2.5~5.0 mg/kg, 定量限为 8.3~16.7 mg/kg。优于 GB 5009.208—2016《食品安全国家标准 食品中生物胺的测定》中高效液相色谱法的检出限和定量限 (水产品检出限 20 mg/kg、定量限 50 mg/kg)。

表 3 峰面积重复性考察

Table 3 Reproducibility investigation of peak area ( $n=7$ )

| 生物胺 | 峰面积/(mV·s) |           |           |           |           |           |           | RSD/% |
|-----|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
|     | 1          | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         | 7         |       |
| 组胺  | 9 564.29   | 9 588.26  | 9 197.81  | 9 242.63  | 9 495.32  | 9 504.27  | 9 494.12  | 1.65  |
| 腐胺  | 3 873.19   | 3 848.55  | 3 754.70  | 3 767.86  | 3 920.09  | 3 897.35  | 3 910.72  | 1.75  |
| 尸胺  | 8 823.63   | 8 868.71  | 8 785.12  | 8 221.96  | 8 850.92  | 8 860.49  | 8 892.97  | 2.73  |
| 亚精胺 | 10 993.15  | 10 856.37 | 10 726.85 | 10 362.81 | 10 382.89 | 10 355.43 | 10 397.72 | 2.55  |
| 章鱼胺 | 3 351.91   | 3 238.58  | 3 079.41  | 3 246.70  | 3 088.91  | 3 032.74  | 3 050.01  | 3.89  |
| 精胺  | 8 946.65   | 8 767.77  | 8 972.46  | 8 446.31  | 8 692.45  | 8 404.35  | 8 533.77  | 2.65  |
| 酪胺  | 6 081.81   | 6 119.81  | 6 173.44  | 6 469.02  | 6 266.45  | 6 199.68  | 5 747.06  | 3.55  |
| 苯乙胺 | 6 501.94   | 6 462.08  | 6 447.23  | 6 505.90  | 6 527.51  | 6 506.00  | 6 481.51  | 0.43  |

表4 保留时间稳定性考察

Table 4 Stability investigation of retention time ( $n=7$ )

| 生物胺 | 保留时间/min |        |        |        |        |        |        | RSD/% |
|-----|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|
|     | 1        | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      |       |
| 腐胺  | 12.584   | 12.576 | 12.568 | 12.571 | 12.576 | 12.584 | 12.581 | 0.050 |
| 组胺  | 14.091   | 14.077 | 14.061 | 14.059 | 14.037 | 14.053 | 14.056 | 0.124 |
| 尸胺  | 16.733   | 16.736 | 16.709 | 16.723 | 16.717 | 16.728 | 16.720 | 0.056 |
| 亚精胺 | 20.299   | 20.293 | 20.288 | 20.304 | 20.293 | 20.309 | 20.277 | 0.052 |
| 章鱼胺 | 22.384   | 22.440 | 22.288 | 22.256 | 22.248 | 22.253 | 22.288 | 0.334 |
| 精胺  | 27.435   | 27.453 | 27.408 | 27.427 | 27.427 | 27.451 | 27.397 | 0.075 |
| 酪胺  | 31.549   | 31.544 | 31.541 | 31.488 | 31.459 | 31.504 | 31.531 | 0.108 |
| 苯乙胺 | 36.229   | 36.267 | 36.155 | 36.147 | 36.139 | 36.163 | 36.208 | 0.134 |

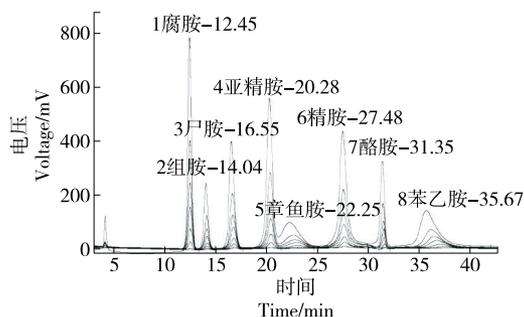


图4 标准曲线色谱图

Figure 4 Standard curve chromatogram

### 2.5 加标回收率试验

以草鱼、大黄鱼和白对虾为基质进行加标回收试验,加标量分别为5.0, 50.0, 200.0 mg/kg, 结果见表6。由表6可知,6次平行测试的平均回收率为62.2%~119.2%,相对标准偏差为0.7%~4.9%,表明该方法的回收率试验和稳定性均符合要求。

### 2.6 实际样品和质控样的检测

采用试验方法对常见的4种市售的鲜冻水产品中生物胺的种类和含量进行测定。由表7可知,样品1为新鲜水产品,此状态下水产品中生物胺种类较少、含量较低;样品2为已腐败的水产品,该状态下各种生物胺含量明显增加。

目前,中国生物胺质控样品中仅组胺有定值,将样品的测试结果按照“Z-比分数”进行评价,  $|Z|=1.65$  (见表8)。CNAS-GL02:2018中规定,  $|Z| \leq 2$  时评价结果为“满意”,表明该检测方法具有较高的准确性和可靠性。

## 3 结论

研究建立了使用氨基酸分析仪测定动物性水产品中8种生物胺的方法。该方法采用柱后在线衍生方式,简化了样品的前处理步骤,可实现批量化检测,显著提高了检测效率;仪器自动在线衍生方式解决了GB 5009.208—

表5 线性及相关系数

Table 5 Linearity and correlation coefficients

| 生物胺 | 线性范围/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 回归方程               | 相关系数    | 检出限/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 定量限/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) |
|-----|--|--------------------|---------|--|--|
| 腐胺  | 1~50                                     | $y=411.28x-219.15$ | 0.999 9 | 2.5                                      | 8.3                                      |
| 组胺  | 1~50                                     | $y=157.45x-105.92$ | 0.998 4 | 2.5                                      | 8.3                                      |
| 尸胺  | 1~50                                     | $y=317.62x-141.02$ | 0.998 7 | 2.5                                      | 8.3                                      |
| 亚精胺 | 1~50                                     | $y=317.62x-141.02$ | 0.998 7 | 2.5                                      | 8.3                                      |
| 章鱼胺 | 1~50                                     | $y=260.41x-223.89$ | 0.997 4 | 5.0                                      | 16.7                                     |
| 精胺  | 1~50                                     | $y=528.19x+312.24$ | 0.994 7 | 5.0                                      | 16.7                                     |
| 酪胺  | 1~50                                     | $y=212.31x-253.61$ | 0.995 0 | 2.5                                      | 8.3                                      |
| 苯乙胺 | 1~50                                     | $y=348.29x+69.945$ | 0.997 9 | 5.0                                      | 16.7                                     |

表 6 回收率及相对标准偏差  
Table 6 Recovery and RSD (n=6)

| 生物胺 | 添加水平/<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 草鱼      |          | 大黄鱼     |          | 北美虾     |          |
|-----|---------------------------------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|
|     |                                 | 平均回收率/% | 相对标准偏差/% | 平均回收率/% | 相对标准偏差/% | 平均回收率/% | 相对标准偏差/% |
| 腐胺  | 5.0                             | 85.4    | 3.1      | 82.1    | 2.3      | 80.1    | 2.9      |
|     | 50.0                            | 95.5    | 1.7      | 91.9    | 2.3      | 92.1    | 1.4      |
|     | 200.0                           | 88.6    | 2.9      | 83.2    | 3.1      | 82.3    | 2.3      |
| 组胺  | 5.0                             | 79.2    | 3.8      | 83.0    | 3.1      | 80.2    | 2.1      |
|     | 50.0                            | 89.1    | 2.2      | 92.3    | 1.3      | 98.0    | 2.4      |
|     | 200.0                           | 82.3    | 3.2      | 81.0    | 3.8      | 86.4    | 2.1      |
| 尸胺  | 5.0                             | 95.7    | 4.2      | 90.6    | 2.8      | 95.3    | 1.5      |
|     | 50.0                            | 100.4   | 1.1      | 101.9   | 1.4      | 99.8    | 2.0      |
|     | 200.0                           | 89.4    | 3.8      | 85.3    | 3.6      | 88.4    | 3.0      |
| 亚精胺 | 5.0                             | 80.1    | 3.0      | 83.4    | 3.5      | 82.3    | 2.8      |
|     | 50.0                            | 87.1    | 1.5      | 89.7    | 1.3      | 93.6    | 1.6      |
|     | 200.0                           | 82.5    | 2.4      | 83.5    | 2.4      | 86.7    | 2.9      |
| 章鱼胺 | 5.0                             | 72.3    | 4.4      | 75.6    | 3.3      | 81.5    | 3.4      |
|     | 50.0                            | 82.5    | 2.3      | 80.3    | 3.2      | 80.3    | 2.9      |
|     | 200.0                           | 77.6    | 4.1      | 79.3    | 4.6      | 80.9    | 2.2      |
| 精胺  | 5.0                             | 78.8    | 4.0      | 79.4    | 3.5      | 75.9    | 4.1      |
|     | 50.0                            | 106.6   | 1.9      | 113.3   | 2.2      | 102.3   | 1.1      |
|     | 200.0                           | 112.3   | 4.2      | 114.1   | 2.9      | 119.2   | 4.6      |
| 酪胺  | 5.0                             | 81.3    | 1.3      | 72.2    | 3.8      | 80.2    | 2.2      |
|     | 50.0                            | 96.1    | 0.7      | 92.3    | 1.1      | 95.2    | 0.9      |
|     | 200.0                           | 81.0    | 4.2      | 85.9    | 2.8      | 82.5    | 1.8      |
| 苯乙胺 | 5.0                             | 62.2    | 4.9      | 68.0    | 3.1      | 70.0    | 4.1      |
|     | 50.0                            | 88.1    | 2.1      | 75.3    | 2.8      | 93.2    | 3.3      |
|     | 200.0                           | 70.1    | 4.3      | 73.9    | 4.0      | 71.0    | 3.6      |

表 7 4 种鲜冻水产品中的生物胺含量<sup>†</sup>

Table 7 Content of biogenic amines in 4 kinds of fresh and frozen aquatic products (n = 3) mg/kg

| 生物胺 | 草鱼-1       | 草鱼-2           | 黄鱼-1       | 黄鱼-2          | 白对虾-1      | 白对虾-2          | 小龙虾-1      | 小龙虾-2          |
|-----|------------|----------------|------------|---------------|------------|----------------|------------|----------------|
| 腐胺  | 10.79±0.44 | 139.97±1.51    | ND         | 140.71±1.31   | ND         | 782.63±2.00    | 6.38±0.52  | 779.22±2.11    |
| 组胺  | ND         | 9.62±0.56      | ND         | ND            | ND         | 5.30±0.34      | ND         | 9.57±0.45      |
| 尸胺  | ND         | 398.60±3.90    | ND         | 344.18±2.69   | ND         | 975.52±4.56    | 5.38±0.47  | 409.71±4.05    |
| 亚精胺 | 10.72±0.61 | ND             | 8.66±0.52  | 180.20±2.67   | 7.95±0.48  | 69.50±2.60     | ND         | 8.34±0.44      |
| 章鱼胺 | ND         | 12.60±0.53     | ND         | ND            | ND         | ND             | 12.75±0.53 | 102.77±2.31    |
| 精胺  | ND         | 38.77±1.47     | 13.90±0.63 | ND            | 5.63±0.29  | ND             | ND         | ND             |
| 酪胺  | ND         | 393.67±4.58    | ND         | 345.25±2.92   | 6.38±0.52  | 499.69±2.28    | 12.29±0.38 | 671.60±4.55    |
| 苯乙胺 | ND         | 57.27±1.18     | ND         | ND            | ND         | ND             | ND         | 66.77±1.53     |
| 合计  | 27.09±1.34 | 1 050.50±13.73 | 22.56±1.14 | 1 010.34±9.58 | 19.96±1.28 | 2 332.64±11.78 | 36.80±1.89 | 2 047.97±15.44 |

† ND 为样品检测结果低于检出限；1 表示新鲜水产品；2 表示 25℃ 放置 48 h 后的样品。

表 8 质控样考核数据

Table 8 Quality control sample assessment data

| 指定值/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 标准差/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 测定值/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | Z    |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------|
| 452.8                      | 64.9                       | 345.6                      | 1.65 |

2016 中手动衍生过程中稳定性差的缺点,应用于实际样品及质控样的检测,回收率、稳定性及准确度均达到满意结果。GB 5009.208—2016 中的色谱法可以实现包括色胺在内 9 种生物胺的检测,而试验方法难以实现色胺与其

他8种生物胺的同时检测,可能是色胺在水溶液中的溶解性差,洗脱液难以将目标物中的色胺分离出来,检测器不能检测到色胺的峰值。将洗脱液改为体积分数为30%甲醇—水溶液,可以检测到色胺的峰值,因此色胺难以与其他8种生物胺同时检测。目前,氨基酸分析法测定8种生物胺的分析时间为50 min,后续研究中将提高交换柱的效能,以求缩短检测时间,提升检测效率。

### 参考文献

- [1] LIU Z L, YANG W G, WEI H M, et al. The mechanisms and applications of cryoprotectants in aquatic products: an overview [J]. *Food Chemistry*, 2023, 408: 135202.
- [2] LI A J, YANG G, WANG Z R, et al. Comparative evaluation of commercial Douchi by different molds: biogenic amines, non-volatile and volatile compounds[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2024, 13(1): 434-443.
- [3] REN H Y, DENG Y P, WANG X H. Effect of a compound starter cultures inoculation on bacterial profile and biogenic amine accumulation in Chinese Sichuan sausages[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2022, 11(2): 341-348.
- [4] 刘亚楠, 李欢, 连仁杰, 等. 水产品生物胺控制技术研究进展 [J]. *食品科学*, 2022, 43(11): 246-253.
- LIU Y N, LI H, LIAN R J, et al. Progress in control techniques for biogenic amines in aquatic products[J]. *Food Science*, 2022, 43(11): 246-253.
- [5] 张慧, 曹慧, 王瑾, 等. 高效液相色谱—三重四极杆串联质谱法分析奶酪中5种生物胺 [J]. *食品与机械*, 2023, 39(10): 80-86.
- ZHANG H, CAO H, WANG J, et al. Determination of 5 kinds of biogenic amines in cheeses by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(10): 80-86.
- [6] 王可利, 叶泰, 徐斐, 等. UPLC-MS/MS法测定黄酒中8种生物胺 [J]. *食品科学*, 2021, 42(16): 281-285.
- WANG K L, YE T, XU F, et al. Determination of eight biogenic amines in Huangjiu (rice wine) by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2021, 42(16): 281-285.
- [7] 张永生, 刘冬敏, 王建辉, 等. 植源性天然产物在食品中降生物胺作用研究进展 [J]. *食品科学*, 2022, 43(3): 315-324.
- ZHANG Y S, LIU D M, WANG J H, et al. Advances in understanding the effects of plant-derived natural products on biogenic amine reduction in foods[J]. *Food Science*, 2022, 43(3): 315-324.
- [8] FU Q Y, ZHENG H W, HAN X N, et al. Development of a highly sensitive HPLC method for the simultaneous determination of eight biogenic amines in aquatic products[J]. *Acta Chromatographica*, 2021, 33(4): 378-386.
- [9] 蔡琼, 余文琴, 李小琴, 等. 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 W Q, LI X Q, et al. 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.
- [10] ZHANG X, FANG C L, HUANG D M, 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 Chemistry*, 2021, 361: 130044.
- [11] SHI N, LI W X, LIU Y W, et al. One-pot derivatization/magnetic solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for rapid analysis of biogenic amines in alcoholic beverages[J]. *Food Chemistry*, 2024, 460: 140754.
- [12] OMAR K A, SADEGHI R. Novel ninhydrin-based deep eutectic solvents for amino acid detection[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2020, 303: 112644.
- [13] FARSHBAFI N J, MIRZAEI H, KHANDAGHI J, et al. Simultaneous extraction and derivatization of biogenic amines during *in situ* deep eutectic solvent-based liquid phase extraction from Doogh samples prior to HPLC analysis[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 205: 111327.
- [14] 史莹, 吴振洲, 刘宇彤, 等. 磺基水杨酸提取鱼粉中生物胺条件优化研究 [J]. *中国饲料*, 2024(9): 113-117.
- SHI Y, WU Z Z, LIU Y T, et al. Study on the optimization of extraction conditions for biogenic amine in fish meal with sulfosalicylic acid[J]. *China Feed*, 2024(9): 113-117.
- [15] 解双瑜, 孙波, 刘丽, 等. 减盐对东北农家酱中生物胺形成的影响 [J]. *食品科学*, 2021, 42(3): 92-97.
- XIE S Y, SUN B, LIU L, et al. Effect of salt reduction on biogenic amine formation in farmhouse fermented soybean paste in Northeast China[J]. *Food Science*, 2021, 42(3): 92-97.
- [16] 张苏平, 邱伟强, 卢祺, 等. 全自动氨基酸分析法测定4种贝类肌肉中谷胱甘肽和游离氨基酸含量 [J]. *食品科学*, 2017, 38(4): 170-176.
- ZHANG S P, QIU W Q, LU Q, et al. Determination of glutathione and free amino acids in muscles of four shellfish species by automatic amino acid analyzer[J]. *Food Science*, 2017, 38(4): 170-176.