

# 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

王璐<sup>1</sup>, 孙小杰<sup>2</sup>, 耿岳<sup>1\*</sup>, 史小萌<sup>1</sup>, 何沛桥<sup>1</sup>, 徐亚平<sup>1</sup>, 刘潇威<sup>1</sup>

[1. 农业农村部农产品质量安全环境因子控制重点实验室/农业农村部环境保护科研监测所/国家农业检测基准实验室(农药残留), 天津 300191; 2. SCIEX 公司, 上海 200335]

**摘要:** **目的** 建立一种基于 QuEChERS 前处理技术快速测定鱼肉中 9 种生物胺(biogenic amines, BAs)含量的超高效液相色谱-串联质谱法, 解决衍生化方法操作复杂、条件严格、重现性差等问题。**方法** 样品经乙腈提取、C<sub>18</sub>和 N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)净化后, 采用 Waters HSS T3 色谱柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm)进行分离, 以 0.5%甲酸水和 0.1%甲酸乙腈为流动相体系进行梯度洗脱, 流速为 0.3 mL/min。采用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)正离子模式, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式检测, 标准曲线外标法定量。**结果** 9 种生物胺化合物在 1.0~100.0 μg/L 质量浓度范围内线性良好, 相关系数( $r^2$ )在 0.9959~0.9998 之间, 方法检出限(limits of detection, LODs)和定量限(limits of quantitation, LOQs)分别为 0.02 和 0.05 mg/kg。3 个浓度水平下, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 1.2%~3.6% ( $n=6$ )之间, 回收率在 75.1%~105.6% 之间。**结论** 该方法操作便捷、分析时间短、准确度和灵敏度高, 适用于鱼肉中 9 种生物胺化合物的测定。

**关键词:** 非衍生化; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 生物胺; 鱼肉

## Rapid determination of 9 kinds of biogenic amines in fish by non-derivatization-QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Lu<sup>1</sup>, SUN Xiao-Jie<sup>2</sup>, GENG Yue<sup>1\*</sup>, SHI Xiao-Meng<sup>1</sup>, HE Pei-Qiao<sup>1</sup>, XU Ya-Ping<sup>1</sup>, LIU Xiao-Wei<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Environmental Factor Control for Agro-product Safety, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/National Reference Laboratory for Agricultural Testing P.R. China, Tianjin 300191, China; 2. SCIEX, Shanghai 200335, China)

**ABSTRACT: Objective** To develop a method for the rapid determination of 9 kinds of biogenic amines (BAs) in fish based on QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and solve the problems of complex operation, strict conditions and poor reproducibility of derivations. **Methods** Samples were extracted with acetonitrile, and purified with C<sub>18</sub> and primary secondary amine (PSA). The target compounds were separated on a Waters HSS T3 column (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) by gradient elution using 0.5% formic acid aqueous solution and 0.1% formic acid-acetonitrile as mobile phase at a flow rate of 0.3 mL/min. The detection was

基金项目: 2019 年国家农产品质量安全风险评估计划项目(GJFP2019034)

Fund: Supported by the National Agricultural Product Quality and Safety Risk Assessment Program in 2019 (GJFP2019034)

\*通信作者: 耿岳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估及产地环境风险评估。E-mail: gengyue@caas.cn

\*Corresponding author: GENG Yue, Ph.D, Associate Professor, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, No.31, Fukang Road, Nankai District, Tianjin 300191, China. E-mail: gengyue@caas.cn

performed with electrospray ionization (ESI) in positive mode under multiple reaction monitoring (MRM) mode, the calibration curve was used for the quantification. **Results** There were good linear relationship for 9 kinds of BAs in the mass concentration range of 1.0–100.0  $\mu\text{g/L}$ , their determination coefficients ( $r^2$ ) were between 0.9959 and 0.9998. The limits of detection (LODs) and limits of quantitation (LOQs) were 0.02 and 0.05  $\text{mg/kg}$ , respectively. The relative standard deviations (RSDs) for 9 kinds of BAs at 3 spiked levels were in the range of 1.2%–3.6% ( $n=6$ ), the recoveries were in the range of 75.1%–105.6%. **Conclusion** With simple pretreatment, short analysis time, high accuracy and sensitivity, the method is suitable for the analysis of 9 kinds of BAs in fish.

**KEY WORDS:** non-derivatization; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; biogenic amines; fish

## 0 引言

生物胺(biogenic amines, BAs)是一类具有生物活性、低分子量、极性或半极性的碱性含氮化合物的总称。其产生途径有两种:一是由含氨基酸脱羧酶的微生物作用于游离氨基酸发生脱羧作用生成;二是由醛酮类化合物发生氨基化或转氨基化作用生成<sup>[1-3]</sup>。根据分子结构特征可将生物胺分为脂肪族胺、芳香族胺和杂环胺等 3 大类<sup>[4-5]</sup>。生物胺在生物体内发挥着不可替代的作用,如组胺可以影响肠道生理功能和白细胞数量、酪胺具有显著的抗氧化作用等<sup>[6]</sup>。过量摄入生物胺可能会导致一系列不良反应,如酪胺会引起高血压、头痛等,腐胺、尸胺可与亚硝酸盐反应产生致癌的亚硝胺<sup>[7-8]</sup>。水产品中富含蛋白质等营养物质,极易滋生微生物发生腐败变质,产生生物胺,引发食品安全风险,为保障水产品食用安全性,不同国家对水产品中的生物胺进行了限量规定(表 1)<sup>[9-11]</sup>。

表 1 不同国家水产品中生物胺限量  
Table 1 Maximum residue limits for biogenic amines in different countries

国家	生物胺种类	水产品种类	限量值/(mg/kg)
中国	组胺	高组胺鱼类	400
	组胺	其他鱼类	200
印度	组胺	生鲜冷藏冷冻鱼类、热加工鱼产品、干制鱼产品、烟熏鱼产品	200
	组胺	鱼肉酱、煎炸类鱼产品、其他即食鱼类产品、其他鱼产品	400
美国	组胺	干制类鱼产品、酸菜鱼产品、发酵鱼产品	400
欧盟	组胺	水产品	200
	组胺	水产品	100

目前,动物性食品中生物胺检测的方法主要有气相色谱法和气相色谱-质谱法<sup>[12-14]</sup>、高效液相色谱法和液相色谱-质谱法<sup>[15-17]</sup>、离子色谱法<sup>[18]</sup>、薄层色谱法<sup>[19]</sup>、毛细管电泳法<sup>[20-21]</sup>等,其中,高效液相色谱法以其分析速度快、

灵敏度高、检测成本低且能够同时分析多种组分的优势应用最为广泛,而液相色谱-串联质谱法也越来越受到研究人员的青睐。样品前处理方法主要有固相萃取法<sup>[22-23]</sup>、基质分散固相萃取法<sup>[24]</sup>、超声波辅助萃取法<sup>[25]</sup>等,但由于生物胺分子无共轭特征结构,因此常规检测方法需经邻苯二甲醛(*o*-phthalaldehyde, OPA)、丹磺酰氯(dansyl chloride, Dns-Cl)等试剂衍生化后才能检测<sup>[26-29]</sup>。我国 GB 5009.208—2016《食品安全国家标准 食品中生物胺的测定》中规定的生物胺检测方法即是利用 Dns-Cl 进行衍生化处理后使用液相色谱进行测定。但是,衍生化反应通常存在操作步骤烦琐复杂、衍生条件严格、衍生产物不稳定、方法重现性较差等问题,且检测过程时间较长,检测效率较低。目前,已报道的液相色谱-串联质谱法和离子色谱-串联质谱法虽然已实现生物胺的非衍生化分析,但其分析灵敏度较低且分析时间过长<sup>[17-18,22,24]</sup>。针对以上问题,本研究拟建立一种基于 QuEChERS 前处理技术与超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)相结合的非衍生化检测方法,用于测定水产品中 9 种生物胺,以期解决生物胺检测过程衍生化操作复杂、稳定性和重现性差、检测时间长、检测成本高的问题,实现快速、准确、高效、低成本检测水产品中生物胺含量,为保障水产品食用品质和质量安全提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

冰鲜带鱼、鲤鱼、黄鱼、鱿鱼、对虾和扇贝购自市场。9 种生物胺标准品[西格玛奥德里奇(上海)贸易公司,表 2]; 乙腈(色谱纯,美国赛默飞世尔科技有限公司); 甲酸(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司); N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)、Bondesil-C<sub>18</sub>(美国安捷伦科技有限公司); 氨水、氯化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); PTFE 疏水性 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜(北京魅霓科技有限公司)。

表2 9种生物胺基本信息  
Table 2 Basic information of 9 kinds of BAs

化合物	CAS	分子式	分子量 <sup>#</sup>	纯度/%
组胺	51-45-6	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub>	111.15	97.0
尸胺	462-94-2	C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	102.18	95.0
精胺	71-44-3	C <sub>10</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub>	202.34	97.0
亚精胺	124-20-9	C <sub>7</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub>	145.25	99.0
苯乙胺*	64-04-0	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N	121.18	98.0
酪胺	51-67-2	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO	137.18	98.0
色胺	61-54-1	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	160.21	97.0
章鱼胺*	104-14-3	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	153.18	98.0
腐胺	110-60-1	C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	88.15	98.5

注: \*表示盐酸盐; #单位为 g/mol。

## 1.2 设备与仪器

SCIEX Triple Quad™ 5500+QTRAP® Ready LC-MS/MS 液质联用系统(美国 ABSCIEX 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); Neofuge 23R 高速冷冻离心机(力康生物医疗科技控股有限公司); Blixer 3 样品搅拌机(法国 robot-coupe 公司); VORTEX MAXI MIX II 涡旋混匀仪(美国 Thermo 公司); ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、ACQUITY UPLC HSS T3 柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) (美国 Waters 公司); Kinetex HILIC 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 美国 Phenomenex 公司)。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 标准溶液配制

10 mg/L 单生物胺标准储备液: 使用体积比为 10% 的甲酸-乙腈溶液将各生物胺配制成 10 mg/L 的单生物胺标准储备液, -16℃ 条件下密封避光保存。

混合生物胺标准工作液: 移取 0.4 mL 各单生物胺标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 使用体积比为 10% 的甲酸-乙腈溶液定容, 配制成各生物胺质量浓度均为 400 μg/L 的混合生物胺标准工作液。分别移取 0.025、0.050、0.125、

0.250、1.250 和 2.500 mL 上述混合标准工作液于 10 mL 容量瓶中, 使用体积比为 10% 的甲酸-乙腈溶液定容, 配制成质量浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 和 100.0 μg/L 的混合生物胺标准工作液, 现配现用。

### 1.3.2 样品前处理

冰鲜带鱼去头、骨、内脏后用样品搅拌机制成鱼糜, 称取 0.5 g 鱼糜样品于 15 mL 塑料离心管中, 加入 500 μL 氨水、5 mL 水, 剧烈振摇 30 s, 再加入 5 mL 乙腈、2 g 氯化钠, 涡旋混匀 5 min, 4200 r/min 离心 5 min, 取 3 mL 上清液, 加入 400 mg C<sub>18</sub>、400 mg PSA, 涡旋混匀 5 min, 4200 r/min 离心 5 min, 取 1 mL 上清液, 加入 100 μL 甲酸, 过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

### 1.3.3 液相色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm); 柱温: 40℃; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 流动相 A: 0.5% 甲酸水溶液, 流动相 B: 0.1% 甲酸乙腈溶液; 梯度洗脱程序见表 3。

表3 梯度洗脱条件

Table 3 Conditions of gradient elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
1.00	90	10
2.00	50	50
4.00	20	80
5.00	20	80
5.10	90	10
6.50	90	10

### 1.3.4 质谱条件

电离模式: 电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)正离子模式; 扫描方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 气帘气压力: 30 psi (1 psi=6.895 kPa); 离子源喷雾电压: 5500 V; 离子源温度: 550℃; 雾化气(GS1)压力: 55 psi; 辅助气(GS2)压力: 60 psi; 9 种生物胺质谱条件见表 4。

表4 9种生物胺质谱条件

Table 4 MS parameters for 9 kinds of BAs

序号	化合物	保留时间/min	四极杆 1(m/z)	四极杆 3(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
1	精胺	1.080	203.1	129.1*/112.1	55	25/27
2	亚精胺	1.124	146	129.1*/112.1	40	15/19
3	腐胺	1.231	89	72.1*	28	13
4	组胺	1.245	112.2	95.2*/68	48	20/30
5	尸胺	1.241	103.2	86*/69	30	15/22
6	章鱼胺	1.566	136	119*/91	50	17/44
7	酪胺	1.950	138	121*/77	28	16/34
8	苯乙胺	3.692	122.2	105.1*/77	30	16/35
9	色胺	3.788	161.2	144.1*/117.2	50	18/33

注: \*为定量离子。

### 1.3.5 结果计算

采集的数据经 SCIEX OS 软件处理获得生物胺的定量结果。样品中生物胺含量以外标法进行定量,按照公式(1)计算:

$$\omega = \rho \times \frac{A \times V}{A_s \times m} \times f \quad (1)$$

其中,  $\omega$  为样品中生物胺含量(mg/kg);  $\rho$  为标液中生物胺浓度(mg/L);  $A$  为样液中被测物峰面积;  $A_s$  为标液中被测物峰面积;  $V$  为提取液体积(mL);  $m$  为样品质量(g);  $f$  为样液定容时产生的稀释倍数( $f=0.91$ )。

### 1.4 数据处理

本文中谱图均由 SCIEX OS 软件生成,通过 Windows 画图软件进行图内标注;应用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行数据的成对  $t$  检验分析。

## 2 结果与分析

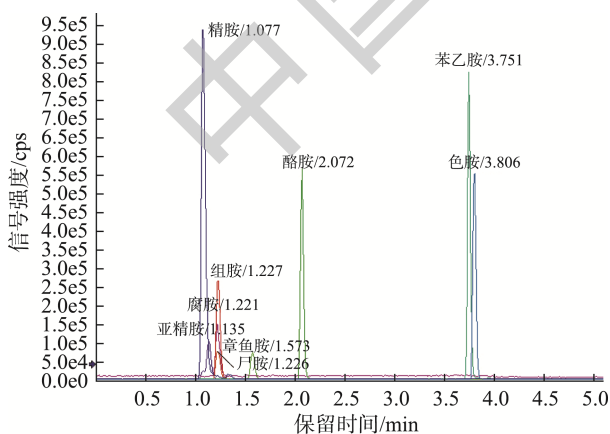
### 2.1 色谱条件的优化

#### 2.1.1 色谱柱的选择

因 9 种生物胺的结构类型和化学性质各异,需要对色谱柱进行优化选择,以确保各化合物既有良好的色谱行为和峰形表现,又有较好分离效果。因此,本研究选择 Waters 的 BEH C<sub>18</sub>、Waters HSS T3 及 Phenomenex 的 Kinetex HILIC 这 3 款超高效液相色谱常用的色谱柱进行对比, HILIC 柱上章鱼胺响应较差,且亚精胺色谱峰前拖尾严重; BEH C<sub>18</sub> 柱对 9 种生物胺的响应较好,但保留时间靠前的精胺、亚精胺、腐胺、组胺和尸胺 5 个化合物的分离度较差,需要将分析时间延长至 9 min;而具有低键合相密度、采用全多孔二氧化硅填料的 HSS T3 柱对 9 种生物胺均有较好的色谱保留,且能够在 6.5 min 的分析时间内确保良好的分离效果(图 1)。因此本研究最终选择 Waters HSS T3 色谱柱作为本研究的分离色谱柱。

#### 2.1.2 流动相酸度的选择

基于生物胺化合物的理化性质,结合文献资料<sup>[30-32]</sup>,



注: 流动相为 0.5%甲酸水和 0.1%甲酸乙腈,离子源喷雾电压 5500 V 条件下,质量浓度为 10  $\mu\text{g/L}$ 。

图 1 9 种生物胺提取离子流图

Fig.1 Extracted ion chromatogram of 9 kinds of BAs

本研究以水-乙腈体系为液相流动体系。结果显示,组胺、酪胺、苯乙胺等色谱行为良好,但精胺和亚精胺的色谱行为为受流动相酸度影响较大(图 2)。考虑到质谱正离子扫描模式下,甲酸可以使用化合物形成  $[M+H]^+$  峰,有助于促进离子化,提高分析灵敏度,因此本研究比较了 0、0.1%和 0.5% 3 个不同浓度甲酸溶液流动相体系对化合物灵敏度的影响。结果发现,使用 0.5%甲酸溶液作为流动相时,9 种生物胺的灵敏度较使用纯水或 0.1%甲酸溶液分别提高 3~10 倍和 2~5 倍。同时,搭配 0.1%甲酸乙腈构成流动相体系后,9 种生物胺的响应值均能满足方法定量限的要求(图 1),最终确定 0.5%甲酸水-0.1%甲酸乙腈为本研究的流动相体系。同时,样品前处理过程需保证上机样液具有一定酸度。

### 2.2 质谱条件的选择

本研究采集模式为 MRM 模式,通过全扫描模式确定 9 种生物胺的保留时间及高强度的一级离子,选择高强度一级离子作为母离子,分别对其进行不同碰撞能量的碎裂,通过主要离子碎片的相对离子丰度确定最佳碰撞能量。各组分保留时间及 MRM 条件见表 4。同时,为了获得最佳的灵敏度,本研究对离子源参数部分进行了详细优化,在不同离子源喷雾电压下(表 5),9 种生物胺的灵敏度呈现显著差异(成对  $t$  检验,  $P_{3500\text{ V vs }4500\text{ V}}=0.02$ ,  $P_{4500\text{ V vs }5500\text{ V}}=0.01$ ,  $P_{3500\text{ V vs }6500\text{ V}}=0.68$ ),随着电压由 3500 V 提高至 5500 V,目标物的灵敏度也呈现增加趋势,当电压设定为 5500 V 时,所有化合物的灵敏度均较佳(图 1)。

### 2.3 方法学验证

在 1.0~100.0  $\mu\text{g/L}$  质量浓度范围内,9 种生物胺的相关系数( $r^2$ ) 在 0.9959~0.9998 之间,具有良好的线性,线性方程见表 6。由于难以获得不含生物胺的空白基质样品来进行基质添加试验,参照文献方法[17],以校准曲线最低点计算 3 倍和 10 倍信噪比所对应的生物胺浓度,结合样品前处理过程,确定 9 种生物胺的方法检出限(limits of detection, LODs)和定量限(limits of quantitation, LOQs)。由于各个化合物的响应存在差异,为便于方法使用,将 9 种生物胺化合物的 LODs 和 LOQs 统一为响应最低的腐胺对应的浓度,分别为 0.02 和 0.05 mg/kg,定量限含量水平空白试剂添加样品按本方法前处理后,样品溶液的色谱图见图 3,远低于 GB 5009.208—2016 方法中的 LOD (20 mg/kg)和 LOQ (50 mg/kg)要求。已报道的液相色谱-串联质谱法和离子色谱-串联质谱法虽然已实现生物胺的非衍生化分析,但待测物中未包含章鱼胺,并且针对其他本研究中涉及的生物胺化合物,其方法 LODs 和 LOQs 分别在 0.02~1.64 mg/kg 和 0.065~5.47 mg/kg 之间<sup>[17-18,22,24]</sup>,本方法较之具有更高的灵敏度。此外,已报道的非衍生化分析方法的分析时长在 18~40 min 之间<sup>[17-18,22,24]</sup>,而本方法仅为 6.5 min,可成倍降低分析时间、提高检测效率。

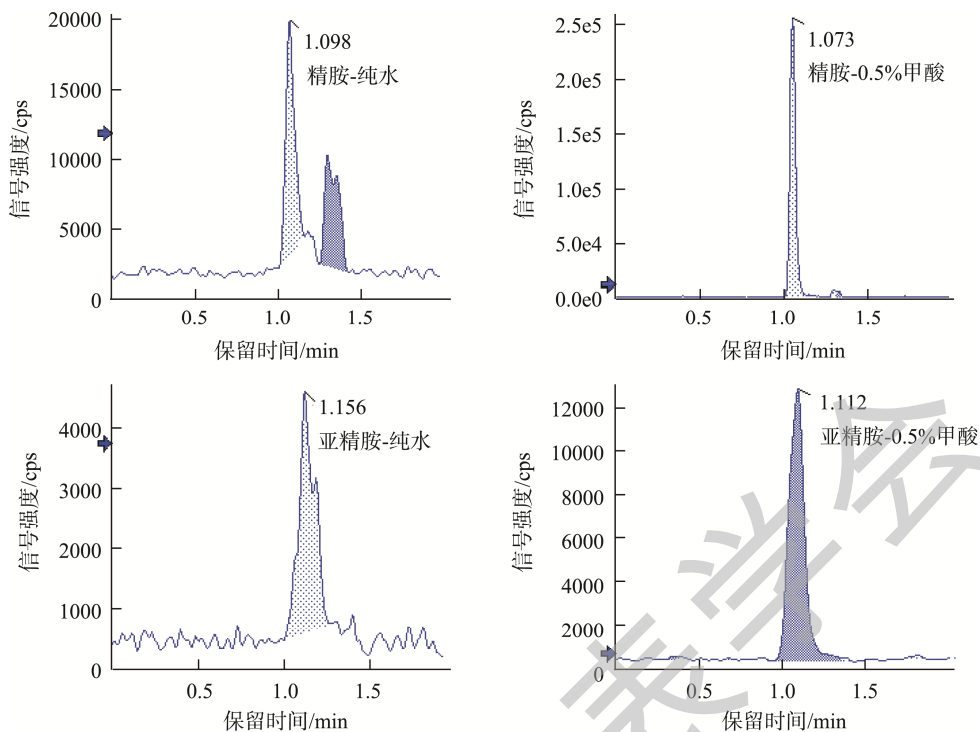


图 2 精胺和亚精胺不同甲酸比例色谱图

Fig.2 Chromatograms of spermine and spermidine under different formic acid proportions

表 5 不同电压下 9 种 BAs 的信号强度(5 μg/L)  
Table 5 Intensities of 9 kinds of BAs under different voltages (5 μg/L)

化合物	离子源喷雾电压/V			
	3500	4500	5500	6500
组胺	91700	101000	125000	115000
尸胺	23200	35900	41100	39700
精胺	246000	279000	322000	342000
亚精胺	27600	35400	36800	31000
苯乙胺	294000	364000	429000	406000
酪胺	198000	219000	261000	242000
色胺	156000	223000	244000	268000
章鱼胺	32100	33300	38200	37700
腐胺	50000	56100	67000	62600

以冰鲜带鱼为样品基质, 开展低、中、高 3 个浓度水平的 6 平行样品添加回收实验。9 种生物胺化合物的回收率范围在 75.1%~105.6%之间, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 1.2%~3.6%之间, 详见表 7。表明本方法正确度和精密度满足鱼肉中生物胺的测定要求。

### 2.4 实际样品验证

采用本研究建立方法对鲤鱼、黄鱼、鱿鱼、对虾和扇贝 5 种北方常见水产品中生物胺的种类和含量进行测定,

表 6 9 种 BAs 线性方程  
Table 6 Linear equations of 9 kinds of BAs

化合物	线性方程
组胺	$Y=8417.77851X+2141.41860$
尸胺	$Y=21769.01645X+3155.39767$
精胺	$Y=13040.25735X-5.85267e4$
亚精胺	$Y=13158.85980X-3.03148e4$
苯乙胺	$Y=23190.65635X+3903.59181$
酪胺	$Y=10416.72902X-607.56970$
色胺	$Y=9242.40016X+1471.77261$
章鱼胺	$Y=3980.61655X+1413.98170$
腐胺	$Y=3.76842e4X+6.07451e4$

结果见表 8。水产品中生物胺含量在 ND~19.78 mg/kg 之间, 且不同水产品中生物胺含量存在较大差异。虽然本方法仅基于鱼肉基质, 但是实际样品测定结果表明, 本方法也可扩展至虾、贝等其余种类水产品中。由于鱼、虾、贝等水产品基质差异较大, 在扩展方法至虾、贝等其他类水产品时, 需要对该类样品进行必要的正确度和精密度验证。值得注意的是, GB 5009.208—2016 方法的检出限和定量限仅为 20 和 50 mg/kg, 难以表征上述水产品中生物胺的明确含量。因此, 本方法适用于水产品中组胺等 9 种生物胺的精确定性定量分析, 可为准确评价生物胺的膳食风险提供技术支撑。

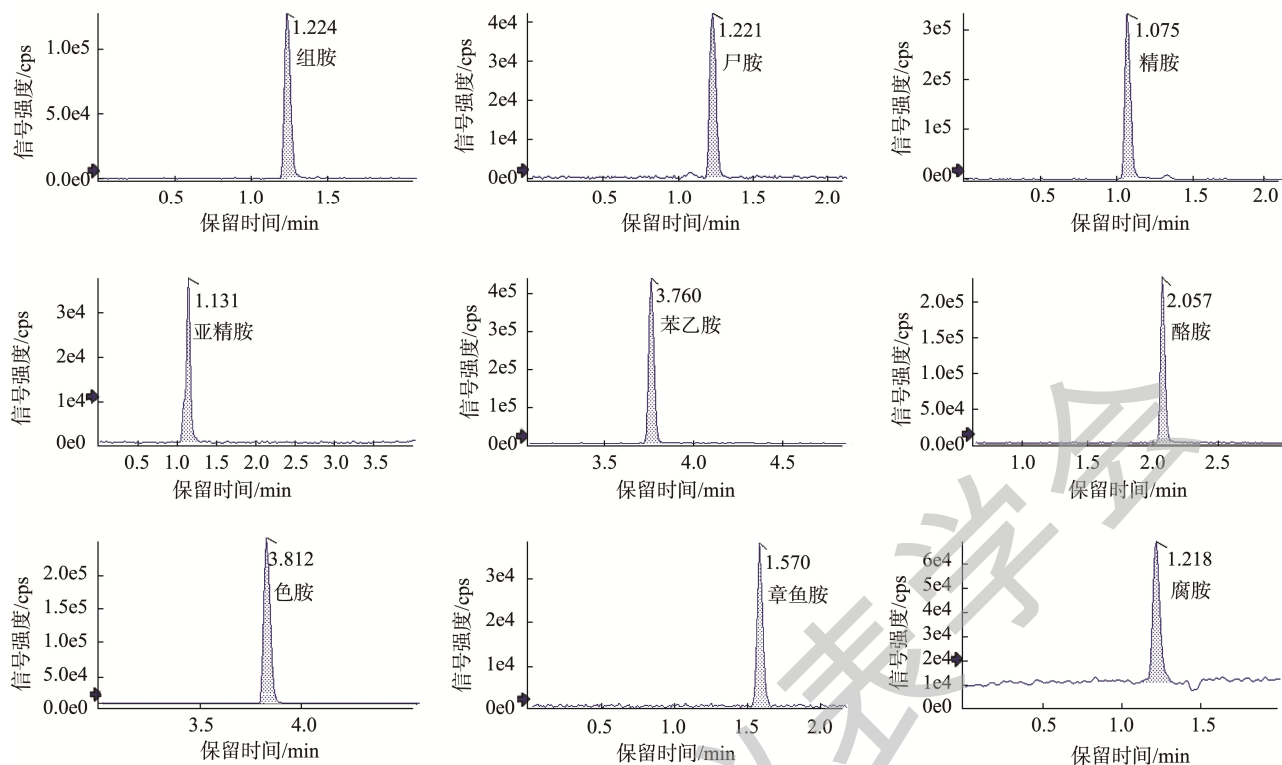


图3 试剂空白中9种BAs色谱图(5 µg/L)

Fig.3 Chromatograms of 9 kinds of BAs in reagent blank solution (5 µg/L)

表7 9种BAs添加回收率和RSDs(n=6)  
Table 7 Recoveries and RSDs of 9 kinds of BAs (n=6)

化合物	本底/(mg/kg)	添加浓度/(mg/kg)			回收率/%(RSDs/%)		
		低	中	高			
组胺	1.67	1.5	3	15	75.1(1.5)	87.4(1.7)	82.8(1.2)
尸胺	3.75	4.0	8	40	76.2(2.1)	77.9(1.3)	89.7(2.3)
精胺	0.32	0.5	1	5	103.7(1.8)	82.4(1.2)	97.4(2.7)
亚精胺	3.34	3.5	7	35	98.3(2.3)	86.2(2.2)	81.7(1.8)
苯乙胺	5.12	5.0	10	50	87.0(1.4)	95.6(2.2)	86.2(1.5)
酪胺	4.25	4.0	8	40	89.6(2.2)	85.3(1.8)	105.6(1.6)
色胺	2.34	2.5	5	25	83.1(2.4)	95.6(3.0)	85.4(2.8)
章鱼胺	0.15	0.2	0.4	2	79.7(2.2)	89.5(1.8)	83.2(1.9)
腐胺	0.43	0.5	1	5	102.8(3.6)	94.5(3.1)	81.4(2.6)

表8 不同样品中9种BAs的含量(mg/kg)  
Table 8 Content of 9 kinds of BAs in different aquatic products (mg/kg)

样品	组胺	尸胺	精胺	亚精胺	苯乙胺	酪胺	色胺	章鱼胺	腐胺	总含量
鲤鱼	4.59	ND	0.35	2.59	3.33	ND	ND	0.09	ND	10.95
黄鱼	15.42	3.25	1.12	3.20	2.98	5.46	0.48	0.27	0.56	32.74
鱿鱼	19.78	2.55	12.51	8.24	3.52	4.13	8.31	0.39	0.49	59.92
对虾	2.15	ND	ND	0.97	2.10	0.08	0.11	ND	ND	5.41
扇贝	8.89	1.99	3.57	1.06	1.54	1.16	2.32	ND	0.71	21.24

注: ND 为样品检测结果低于检出限。

### 3 结论

本研究建立了基于 QuEChERS 样品处理方法的水产品中 9 种 BAs 的 UPLC-MS/MS 非衍生化快速检测方法。该方法线性关系良好,准确度和精密度高,较传统衍生化及已报道的非衍生化方法在操作步骤、分析时间和灵敏度等方面具有明显优势,样品前处理时间由衍生化方法的约 3 h 缩短为约 15 min,分析时间仅为 6.5 min,检测效率极大提高,为快速、准确、高效测定水产品中生物胺化合物提供了新的技术手段。

### 参考文献

- [1] LI BB, LU SL. The importance of amine-degrading enzymes on the biogenic amine degradation in fermented foods: A review [J]. *Process Biochem*, 2020, 99: 331–339.
- [2] HAN B, HAN XY, DENG H, *et al.* Profiling the occurrence of biogenic amines in wine from Chinese market and during fermentation using an improved chromatography method [J]. *Food Control*, 2022, 136: 108859.
- [3] 何璇, 马堃, 哈斯, 等. 食品中生物胺形成与抑制的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(18): 25–28.  
HE X, MA K, HA S, *et al.* Research progress on the formation and inhibition of biogenic amines in food [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(18): 25–28.
- [4] SANTOS SMH. Biogenic amines: Their importance in foods [J]. *Int J Food Microbiol*, 1996, 29(2/3): 213–231.
- [5] 王光强, 俞剑桑, 胡健, 等. 食品中生物胺的研究进展[J]. *食品科学*, 2016, 37(1): 269–278.  
WANG GQ, YU JS, HU J, *et al.* Progress in research on biogenic amines in foods [J]. *Food Sci*, 2016, 37(1): 269–278.
- [6] ZHANG YJ, ZHANG Y, ZHOU Y, *et al.* A review of pretreatment and analytical methods of biogenic amines in food and biological samples since 2010 [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1605: 1–14.
- [7] 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 Res*, 2020, 34(11): 89–97.
- [8] 李璇, 刘琪, 朱蔚珊, 等. 不同发酵豆制品中生物胺调查分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(1): 298–305.  
LI X, LIU Q, ZHU WS, *et al.* Investigation and analysis of biogenic amines in different fermented bean products [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(1): 298–305.
- [9] 徐鸣, 王金庆, 侯博玉. 冰温发酵鳙鱼对鱼肉滋味及其生物胺含量的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(4): 75–81.  
XU M, WAN JQ, HOU BY. Influence of fermented at ice temperature on the taste and the content of biogenic amines in mandarin fish [J]. *Food Ferment Ind*, 2022, 48(4): 75–81.
- [10] 曾媛, 袁超璐, 陈益敏, 等. 高效液相色谱法测定金枪鱼产品中的生物胺含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(22): 5881–5887.  
ZENG Y, YUAN CL, CHEN YM, *et al.* Determination of biogenic amines in tuna products using high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(22): 5881–5887.
- [11] 刘亚楠, 李欢, 陈剑, 等. 水产品生物胺检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(15): 269–277.  
LIU YN, LI H, CHEN J, *et al.* Progress in detection techniques for biogenic amines in aquatic products [J]. *Food Sci*, 2021, 42(15): 269–277.
- [12] HUANG J, GAN N, LV FY, *et al.* Environmentally friendly solid-phase microextraction coupled with gas chromatography and mass spectrometry for the determination of biogenic amines in fish samples [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(22): 4384–4390.
- [13] PLOTKA-WASYLKA J, SIMEONOV V, NAMIESNIK J. An *in situ* derivatization-dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas-chromatography-mass spectrometry for determining biogenic amines in home-made fermented alcoholic drinks [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1453: 10–18.
- [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] HE S, CHEN YN, YANG XQ, *et al.* Determination of biogenic amines in chub mackerel from different storage methods [J]. *J Food Sci*, 2020, 85: 1699–1706.
- [16] ISHIMARU M, MUTO Y, NAKAYAMA A, *et al.* Determination of biogenic amines in fish meat and fermented foods using column-switching high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Food Anal Method*, 2019, 12(1): 166–175.
- [17] SIROCCHI V, CAPRIOLI G, RICCIUTELLI M, *et al.* Simultaneous determination of ten underivatized biogenic amines in meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) [J]. *J Mass Spectrom*, 2014, 49: 819–825.
- [18] PALERMO C, MUSCARELLA M, NARDIELLO D, *et al.* A multiresidual method based on ion-exchange chromatography with conductivity detection for the determination of biogenic amines in food and beverages [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(2/3): 1015–1023.
- [19] TAO ZH, SATO M, HAN YL, *et al.* A simple and rapid method for histamine analysis in fish and fishery products by TLC determination [J]. *Food Control*, 2011, 22: 1154–1157.
- [20] MANTOANELLI JOF, GONCALVES LN, PEREIRA EA. Dansyl chloride as a derivatizing agent for the analysis of biogenic amines by CZE-UV [J]. *Chromatographia*, 2020, 83: 767–778.
- [21] JASTRZEBSKA A. A comparative study for determination of biogenic amines in meat samples by capillary isotachopheresis with two electrolyte systems [J]. *Eur Food Res Technol*, 2012, 235: 563–572.
- [22] SAGRATINI G, FERNANDEZ FM, BERARDINIS F, *et al.* Simultaneous determination of eight underivatized biogenic amines in fish by solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2012, 132: 537–543.
- [23] CHANG QY, ZANG XH, WU T, *et al.* Use of functionalized covalent

- organic framework as sorbent for the solid-phase extraction of biogenic amines from meat samples followed by high-performance liquid chromatography [J]. *Food Anal Method*, 2019, 12(1): 1–11.
- [24] SELF RL, WU WH, MARKS HS. Simultaneous quantification of eight biogenic amine compounds in tuna by matrix solid-phase dispersion followed by HPLC-orbitrap mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59: 5906–5913.
- [25] TAHMOUZI S, KHAKSAR R, GHASEMLOU M. Development and validation of an HPLC-FLD method for rapid determination of histamine in skipjack tuna fish (*Katsuwonus pelamis*) [J]. *Food Chem*, 2011, 126: 756–761.
- [26] CAO D, XU X, XUE S, *et al.* An *in situ* derivatization combined with magnetic ionic liquid-based fast dispersive liquid-liquid microextraction for determination of biogenic amines in food samples [J]. *Talanta*, 2019, 199: 212–219.
- [27] KOUNNOUN A, MAADOUDI MEL, CACCIOLA F, *et al.* Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of histamine in fish samples using fluorescence detection with pre-column derivatization [J]. *Chromatographia*, 2020, 83: 893–901.
- [28] KIM YS, KIM Y, PARK H, *et al.* Effects of various pre-treatment and cooking on the levels of biogenic amines in Korean and Norwegian mackerel [J]. *Foods*, 2021, 10(9): 2190.
- [29] TIRIS G, YANIKOGLU RS, CEYLAN B, *et al.* A review of the currently developed analytical methods for the determination of biogenic amines in food products [J]. *Food Chem*, DOI: 10.1016/j. foodchem.2022.133919
- [30] LEE SH, YOO MY, SHIN DB. The identification and quantification of biogenic amines in Korean turbid rice wine, Makgeolli by HPLC with mass spectrometry detection [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2015, 62: 350–356.
- [31] 任梦雅, 冯潇慧, 解竞静, 等. 食糜样本中 11 种生物胺同步检测方法的建立[J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 51(6): 1320–1331.
- REN MY, FENG XH, XIE JJ, *et al.* Establishment of simultaneous detection of 11 biogenic amine in chime samples [J]. *Acta Vet Zootechnica Sin*, 2015, 51(6): 1320–1331.
- [32] 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 KL, 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 Sci*, 2021, 42(16): 281–285.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

### 作者简介



王 璐, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为环境及农产品中有机污染物检测技术与安全控制标准研究。

E-mail: wanglu@caas.cn



耿 岳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估及产地环境风险评估。

E-mail: gengyue@caas.cn