

## 实验技术与方法

## 高效液相色谱-质谱/质谱法测定水产品 and 肉类中9种生物胺

王溪<sup>1</sup>,李文斌<sup>2</sup>,马利静<sup>2</sup>,吉文亮<sup>1</sup>

(1. 江苏省疾病预防控制中心,江苏南京 210009;2. 上海迪柯马科技发展有限公司天津分公司,天津 300401)

**摘要:**目的 建立快速测定水产品(鱼、虾、贝)和肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中9种生物胺含量的高效液相色谱-质谱/质谱法。方法 样品先加入乙腈沉淀蛋白,再用0.5%三氯乙酸溶液提取,正己烷除脂后取下层样品溶液稀释后用DVB(100 mg/3 mL)固相萃取小柱净化,以70%乙腈+30%水(含100 mmol/L甲酸铵和0.5%甲酸)和90%乙腈+10%水作为流动相梯度洗脱,目标物经ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH Amide柱(1.7 μm, 2.1 mm×100 mm)分离,使用电喷雾离子源、正离子多反应监测模式进行检测,内标法定量。结果 腐胺、尸胺、精胺、亚精胺在5~500 ng/mL,组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺在0.5~50 ng/mL范围内线性关系良好,相关系数 $r$ 均>0.996。腐胺、尸胺、精胺、亚精胺检出限为1 mg/kg,定量限为3 mg/kg,组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺的检出限为0.1 mg/kg,定量限为0.3 mg/kg。水产品 and 肉类低、中、高3个添加浓度水平的加标回收率为70.6%~119%,相对标准偏差均<10%( $n=6$ )。结论 该方法操作简便,准确可靠,灵敏度高,适用于水产品(鱼、虾、贝)和肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺的检测。

**关键词:**高效液相色谱-质谱/质谱;通过式固相萃取;水产品 and 肉类;生物胺

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2025)09-0817-11

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.09.004

### Determination of 9 biogenic amines in aquatic products and meat by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

WANG Xi<sup>1</sup>, LI Wenbin<sup>2</sup>, MA Lijing<sup>2</sup>, JI Wenliang<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210009, China;

2. Shanghai Dikma Technology Development Co., Ltd. Tianjin Branch, Tianjin 300401, China)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for rapid determination of nine biogenic amines in aquatic products (fish, shrimp, shellfish) and meat (pork, beef, mutton) based on non derivatized passing through solid-phase extraction pretreatment technology. **Methods** Acetonitrile was used to precipitate the protein in the sample, then 0.5% trichloroacetic acid solution was used for extraction. After removing the lipid with n-hexane, lower layer of the sample solution was diluted and purified by passing through a DVB (100 mg/3 mL) solid-phase extraction column. 70% acetonitrile+30% water (containing 100 mmol/L ammonium formate and 0.5% formic acid) and 90% acetonitrile+10% water were used as mobile phase for gradient elution. The target substance was eluted by ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH Amide column (1.7 μm, 2.1 mm×100 mm) was used for separation. Electrospray ion source and positive ion multi reaction monitoring mode were used for detection, and internal standard method was used for quantification. **Results** The linear relationship between putrescine, cadaverine, spermine, and spermidine was good within the range of 5-500 ng/mL, while histamine, tyramine, serotonin, phenylethylamine, and β-phenylethylamine were good within the range of 0.5-50 ng/mL, with correlation coefficients  $r$ >0.996. The detection limit of putrescine, cadaverine, spermine, and spermidine was 1 mg/kg, and the quantification limit was 3 mg/kg. The detection limit of histamine, tyramine, serotonin, phenylethylamine, and β-phenylethylamine was 0.1 mg/kg, and the quantification limit was 0.3 mg/kg. The spiked recovery rates of low, medium, and high concentrations in aquatic and meat products ranged from 70.6% to 119%, with relative standard deviations less than 10% ( $n=6$ ). **Conclusion** This method was easy to operate, accurate, reliable, and highly sensitive, and was suitable for the detection of biogenic amines in aquatic products (fish, shrimp, shellfish) and meat (pork, beef, mutton).

收稿日期:2025-06-25

基金项目:江苏省卫生健康委科研课题(Ym2023041)

作者简介:王溪 女 主管技师 研究方向为食品、化妆品、消毒产品理化检验 E-mail: wangxi\_sanjia@163.com

通信作者:吉文亮 男 主任技师 研究方向为食品、化妆品、消毒产品理化检验 E-mail: 502869110@qq.com

**Key words:** High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; solid-phase extraction; aquatic products and meat; biogenic amines

生物胺是一类具有生物活性的低分子量含氮有机化合物,主要由微生物的氨基酸脱羧酶作用于氨基酸脱羧生成,或由醛酮类化合物的氨基化和转氨基作用生成<sup>[1-3]</sup>。大多数食物中都含有生物胺,水产品、肉类等富含蛋白质的食物在储存过程中容易产生生物胺,因此生物胺被认为是食品新鲜度和卫生质量的重要指标<sup>[4]</sup>。欧盟使用两个关键参数,生物胺指数(腐胺、尸胺、组胺和酪胺的总和,及亚精胺/精胺比值,评估食品质量<sup>[5]</sup>。适量生物胺可促进人体的正常生理活动,而过量摄入会产生健康危害,包括皮肤过敏、呼吸道刺激、胃肠道症状、心血管症状、神经系统症状等<sup>[6-7]</sup>。

常见生物胺中组胺毒性最大,酪胺次之<sup>[8]</sup>。腐胺和尸胺虽然自身毒性较小,但是能够抑制组胺和酪胺相关代谢酶活性,从而使组胺和酪胺在机体中累积而加重症状。尸胺、腐胺、精胺和亚精胺还可与亚硝酸盐产生反应生成致癌物质亚硝胺<sup>[9]</sup>。目前国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)、欧盟、澳大利亚、新西兰、美国等国家和组织在食品安全风险分析的基础上,规定了明确且严格的组胺限量。美国对水产品中组胺限量为 50 mg/kg,酪胺限量为 100 mg/kg,欧盟对食品中酪胺限量范围为 100~800 mg/kg,对水产品中组胺限量为 100 mg/kg<sup>[10-11]</sup>;我国食品安全国家标准 GB 2733—2015、GB 10136—2015 对鲜、冻动物性水产品、动物性水产制品制定了组胺限量,但较为宽松,对高组胺鱼类中组胺限量为 400 mg/kg,对其他鱼类中组胺限量为 200 mg/kg。《食品安全国家标准 婴幼儿罐装辅助食品》(GB 10770—2025)规定了含有鱼肉的产品中组胺的量不应大于 100 mg/kg。

我国 GB 5009.208—2016《食品安全国家标准 食品中生物胺的测定》规定了食品中 9 种生物胺的测定方法,包含第一法液相色谱法,第二法分光光度法。由于分光光度法仅适用于水产品中组胺的测定,目前多采用第一法液相色谱法,适用于酒类、调味品、水产品 and 肉类中 9 种生物胺的测定。经验证,该法采用丹磺酰氯作为衍生剂对样品进行柱前手动衍生,前处理流程繁杂,耗时较长,衍生产物不稳定,9 种生物胺加标回收率普遍存在偏高或偏低情况,实验数据稳定性较差。该法定量限为 50 mg/kg,刚刚达到国际限量要求,灵敏度较低,需要进行优化。

生物胺极性大且缺少发色基团,已报道方法多需要衍生以减小极性,利于在色谱柱上的保留和分

离,同时增加发色基团<sup>[12]</sup>,如液相色谱法<sup>[13]</sup>、气相色谱法<sup>[14]</sup>、液相色谱-质谱/质谱法<sup>[15]</sup>等。操作烦琐且衍生产物不稳定,样品中的脂肪、蛋白质、氨基酸等杂质会造成干扰。本研究将采用高效液相色谱-质谱/质谱技术,优化色谱质谱条件,避免衍生操作,提高生物胺的色谱行为和灵敏度。水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)样品基质复杂,本文将同时优选样品提取及净化方法,避免共提取杂质的干扰,提高方法的可操作性和准确度。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器和试剂

标准品:色胺(CAS号:61-54-1,批号:S171695)、盐酸β-苯乙胺(CAS号:156-28-5,批号:S171693)、腐胺(CAS号:110-60-1, S183955)、尸胺(CAS号:462-94-2,批号:S173339)、组胺(CAS号:51-45-6,批号:S194409)、章鱼胺盐酸盐(CAS号:770-05-8 批号:S134543)、酪胺(CAS号:51-67-2,批号:S183957)、亚精胺(CAS号:124-20-9,批号:S171699)、精胺(CAS号:71-44-3,批号:S171697)等 9 种生物胺标准溶液(溶媒:0.1 mol/L 盐酸溶液,单体浓度 1 000 μg/mL,规格:1 mL)均购自天津阿尔塔科技有限公司。

同位素内标:色胺-D<sub>4</sub>盐酸盐(纯度 98.9%)、水中β-苯乙胺-D<sub>4</sub>溶液(100 μg/mL, 1 mL)、腐胺-D<sub>8</sub>(纯度 99.9%)、水中尸胺-D<sub>4</sub>溶液(100 μg/mL, 1 mL)、水中组胺盐酸盐-D<sub>4</sub>溶液(单体浓度 100 μg/mL, 1 mL)、酪胺盐酸盐-D<sub>4</sub>(纯度 99.9%)、亚精胺-D<sub>6</sub>(纯度 97.0%)、精胺-D<sub>20</sub>(纯度 98.3%)等 8 种生物胺同位素内标均购自天津阿尔塔科技有限公司;章鱼胺-D<sub>3</sub>盐酸盐(纯度 98.3%)购自上海安谱瑾世标准技术服务有限公司。

甲醇、乙腈、正己烷、甲酸均为色谱纯(德国 Merck 公司);甲酸铵,色谱纯(上海安谱实验科技股份有限公司);QuEChERS 净化填料 EMR、HMR、C18、PSA,分析纯(上海安谱实验科技股份有限公司);固相萃取小柱:C18(100 mg/3 mL,美国 SUPELCO 公司)、C8(100 mg/3 mL,美国 SUPELCO 公司)、MCX(60 mg/3 mL 美国 waters 公司)、DVB(100 mg/3 mL,上海迪马科技发展有限公司)、PLS-A(100 mg/3 mL,上海迪马科技发展有限公司)、EMR(100 mg/3 mL,美国 Agilent 公司);实验用水为瓶装纯净水,浙江娃哈哈公司。ACQUITY UPLC® BEH Amide 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm,美国 Waters 公司);有机

相衬式滤器滤膜(13 mm×0.22 μm, 尼龙材质, 美国 Agilent 公司)。

Acquity I CLASS PLUS 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Xevo TQ-XS 型质谱仪(美国 Waters 公司); 台式离心机(X1R Pro 型, 美国 Thermo 公司); 涡旋混合器(Vortex-6 型, 江苏其林贝尔公司)。使用 Masslynx 软件(美国 Waters 公司)采集数据并积分、Microsoft Excel 2010(美国微软公司)进行数据统计分析。

## 1.2 标准溶液配制

### 1.2.1 混合标准储备溶液

分别准确吸取各生物胺标准溶液 0.5 mL 至 5 mL 容量瓶中, 用 0.1% 甲酸水溶液定容至刻度, 混匀, 配制成浓度为 100 μg/mL 的混合标准储备溶液, 置 4 °C 冰箱储存。保存期为 6 个月。

### 1.2.2 混合标准中间液

准确吸取上述混合标准储备液适量, 逐级用 40% 甲醇(含 0.1% 甲酸)溶液稀释成腐胺、尸胺、精胺、亚精胺浓度为 5 μg/mL, 组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺浓度为 0.5 μg/mL 的混合标准中间液, 置 4 °C 冰箱储存, 保存期为 3 个月。

### 1.2.3 混合标准使用液

准确吸取上述混合标准中间液 1 mL 至 10 mL 容量瓶中, 用 40% 甲醇(含 0.1% 甲酸)溶液定容至刻度, 配制成腐胺、尸胺、精胺、亚精胺浓度为 500 ng/mL, 组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺浓度为 50 ng/mL 的混合标准使用液。

### 1.2.4 内标储备溶液

准确称取色胺-D<sub>4</sub>、腐胺-D<sub>8</sub>、酪胺-D<sub>4</sub>、亚精胺-D<sub>6</sub>、精胺-D<sub>20</sub>、章鱼胺-D<sub>3</sub> 适量, 置于 10 mL 容量瓶中, 用 0.1% 甲酸水溶液溶解后稀释至刻度, 混匀, 配制成浓度为 100 μg/mL 的内标储备溶液, 置 4 °C 冰箱储存。保存期为 6 个月。

### 1.2.5 混合内标使用液

准确吸取上述内标储备溶液及水中 β-苯乙胺-D<sub>4</sub> 溶液、水中尸胺-D<sub>4</sub> 溶液、水中组胺-D<sub>4</sub> 溶液适量, 用 40% 甲醇(含 0.1% 甲酸)逐级稀释成腐胺-D<sub>8</sub>、尸胺-D<sub>4</sub>、亚精胺-D<sub>6</sub>、精胺-D<sub>20</sub> 为 5 μg/mL, 组胺-D<sub>4</sub>、酪胺-D<sub>4</sub>、色胺-D<sub>4</sub>、章鱼胺-D<sub>3</sub>、β-苯乙胺-D<sub>4</sub> 浓度为 0.5 μg/mL 混合内标使用液。置 4 °C 冰箱储存, 保存期为 3 个月。

### 1.2.6 标准系列溶液

分别吸取混合标准使用液 10、20、40 μL, 混合标准中间液 10、20、40、100 μL, 加入混合内标使用液 10 μL, 用 40% 甲醇(含 0.1% 甲酸)溶液定容至 1 mL, 制备成标准系列, 腐胺、尸胺、精胺、亚精胺浓

度分别为 5、10、20、50、100、200、500 ng/mL, 组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20、50 ng/mL。临用现配。

## 1.3 样品采集与前处理

从南京市场上购得水产品(鱼、虾、贝各 4 份)和肉类(猪肉、牛肉、羊肉各 4 份)。取水产品及肉类样品的可食部分, 加干冰低温打碎, 充分均质, 四分法分别取 10~20 g 分装入多个具塞样品瓶内, 贴上标签后置于 -18 °C 冰箱保存。每次样品分析时取一瓶, 提前置于冰箱 4 °C 解冻, 避免室温解冻及反复冻融取样。

样品提取: 称取 1 g(精确至 0.001 g)样品至 20 mL 容量瓶, 先加入 2 mL 乙腈, 再用 0.5% 三氯乙酸溶液定容至刻度, 涡旋混合 10 min, 转移至 50 mL 离心管, 8 000 r/min 4 °C 离心 5 min(离心半径 104 mm)。取上清液, 加入 10 mL 正己烷, 涡旋混合 5 min, 8 000 r/min 4 °C 离心 5 min(离心半径 104 mm), 重复除脂 1 次。取下层样品溶液 0.2 mL, 加入混合内标使用液 20 μL, 用水定容至 1 mL, 混匀, 备用。

样品净化: DVB(100 mg/3 mL)小柱无需活化, 直接将提取液移入小柱, 并用洗耳球轻轻挤压, 待有液滴流出后, 松手, 剩余液体自行流出, 接收所有流出液。取 0.5 mL 流出液用甲醇稀释至 1 mL, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 供 HPLC-MS/MS 测定。

## 1.4 仪器条件

### 1.4.1 色谱条件

ACQUITY UPLC® BEH Amide 色谱柱(1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm); 柱温: 40 °C; 流动相分别采用 A: 70% 乙腈+30% 水(含 100 mmol/L 甲酸铵和 0.5% 甲酸), B: 90% 乙腈+10% 水, 梯度洗脱程序见表 1; 流速: 0.4 mL/min; 进样量: 1 μL。

表 1 梯度洗脱程序表  
Table 1 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0	100
2	0	100
2.01	100	0
9	100	0
9.01	0	100
14	0	100

### 1.4.2 质谱条件

电喷雾离子源(Electrospray ionization, ESI); 毛细管电压 0.5 kV; 离子源温度 150 °C; 脱溶剂温度 600 °C; 去溶剂流速 1 000 L/Hr; 锥孔气流速 150 L/Hr; 雾化气压力 7.0 bar; 碰撞气流速 0.15 mL/min; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应检测。9 种生物胺及同位素内标的定性离子对、定量离子对, 锥孔电压及碰撞能量见表 2。

表2 目标化合物质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters of target compounds

化合物	保留时间/min	母离子/( <i>m/z</i> )	子离子/( <i>m/z</i> )	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
腐胺	4.51	89.1	30.0/72.1 <sup>a</sup>	10	12/8
尸胺	4.37	103.0	69.1/86.1 <sup>a</sup>	20	15/8
组胺	4.18	112.1	68.0/95.1 <sup>a</sup>	20	18/10
β-苯乙胺	3.30	122.2	77/105.1 <sup>a</sup>	20	10/10
章鱼胺	3.60	136.1	91.1/119.1 <sup>a</sup>	20	10/15
酪胺	3.40	138.0	77.0/121.0 <sup>a</sup>	20	20/10
亚精胺	5.53	146.0	72.0 <sup>a</sup> /112.0	30	14/14
色胺	3.31	161.2	117.1/144.1 <sup>a</sup>	10	20/10
精胺	7.01	203.1	112.2 <sup>a</sup> /129.3	40	17/11
腐胺-D <sub>8</sub>	4.51	97.0	80.0	10	8
尸胺-D <sub>4</sub>	4.37	107.0	90.0	20	8
组胺-D <sub>4</sub>	4.18	116.0	99.0	20	10
β-苯乙胺-D <sub>4</sub>	3.30	126.0	109.0	20	10
章鱼胺-D <sub>3</sub>	3.60	139.0	94.0	20	15
酪胺-D <sub>4</sub>	3.40	142.0	125.0	20	10
亚精胺-D <sub>6</sub>	5.53	152.0	72.0	30	14
色胺-D <sub>4</sub>	3.31	165.0	148.0	10	10
精胺-D <sub>20</sub>	7.01	223.1	125.9	40	17

注:<sup>a</sup>定量离子

### 1.5 标准曲线绘制

按 1.2.6 配制标准溶液系列,在上述色谱条件和质谱条件下绘制标准曲线,该曲线的纵坐标为被测组分定量离子峰面积与同位素内标定量离子峰面积比值  $y$ ,横坐标为对应的标准溶液系列浓度  $x$ 。

## 2 结果

### 2.1 质谱条件与色谱条件优化

将生物胺标准溶液以 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速注入 Xevo TQ-XS 质谱仪中,选择 Combined 模式,设置流动相为 50% 乙腈,流速 0.2  $\text{mL}/\text{min}$ ,关闭碰撞气,在一级质谱 MS1 Scan 母离子扫描模式下找到各目标物质的母离子。随后打开碰撞气,在二级质谱下通过调节碰撞能,选取各目标物质信号最强的子离子作为定量离子,信号次强的子离子作为定性离子。对各离子对的毛细管电压、锥孔电压和碰撞能进行优化得到最优质谱信号,确定质谱参数见表 2。

实验对比了 C18 色谱柱、T3 色谱柱、Hilic 色谱柱和 Amide 色谱柱对 9 种生物胺的保留及分离效果。由于生物胺极性较大,在 C18 色谱柱及 T3 色谱柱等反相色谱柱保留较差,精胺、亚精胺、尸胺、腐胺在死时间出峰。Hilic 色谱柱和 Amide 色谱柱为亲水色谱柱,采用强极性固定相、高比例有机相/低比例水相组成的流动相,改善在反相色谱中保留较差的强极性物质的保留行为<sup>[16-18]</sup>。其中 Amide 色谱柱为酰胺基键合亚乙基桥杂化颗粒色谱柱,具有更高的稳定性和定量准确性<sup>[19-20]</sup>。实验结果表明 9 种生物胺在这两种色谱柱的保留明显增强,但 Amide 色谱柱的对性质相近的组分(腐胺与尸胺,章鱼胺与酪胺)的分离能力强于 Hilic 色谱柱。因此选用 Amide 色

谱柱优化流动相。

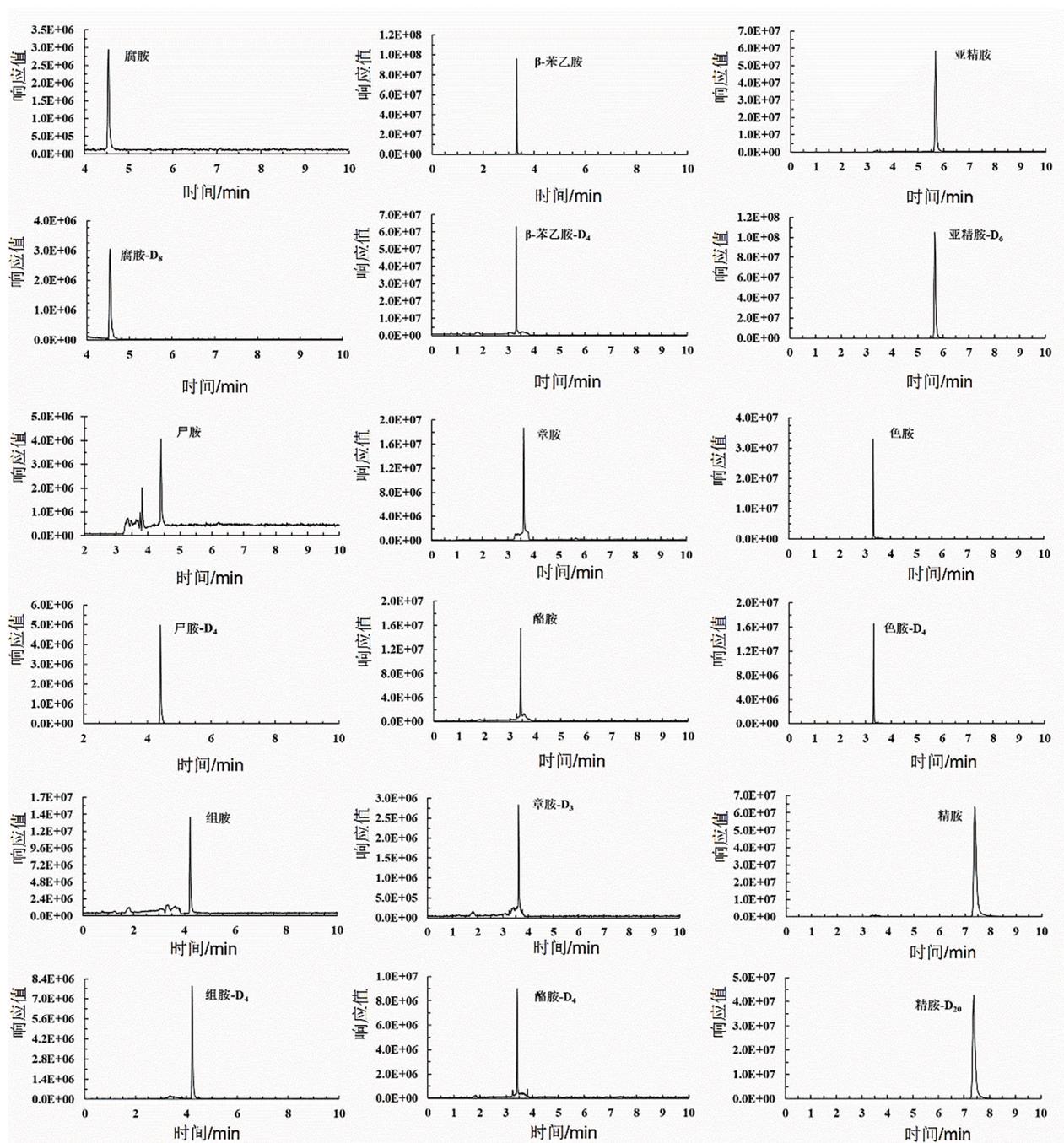
实验发现甲酸铵溶液的缓冲系统比甲酸水溶液重现性好,且能降低  $\beta$ -苯乙胺信噪比。但当流动相甲酸铵浓度低时,精胺、亚精胺难以从 Amide 色谱柱洗脱,当盐浓度达到 100  $\text{mmol}/\text{L}$  时,精胺、亚精胺出峰正常。进一步优化有机相与水相的比例使保留时间均在 3~7  $\text{min}$ ,减少杂质峰干扰。最终采用 A:70% 乙腈+30% 水(含 100  $\text{mmol}/\text{L}$  甲酸铵和 0.5% 甲酸),B:90% 乙腈+10% 水进行梯度洗脱,能够有效分离 9 种目标物及同位素内标。

同时,对标准品溶剂进行了筛选。生物胺水溶性好,但标准品水溶液具有较大的溶剂效应,峰形展宽、不对称。腐胺、尸胺、组胺在甲醇或乙腈中溶解度较差,因此响应较低且稳定性差。调整后发现 40% 甲醇具有较好的峰形与响应,并添加 0.1% 甲酸增加生物胺稳定性。

9 种生物胺标准溶液与同位素内标溶液的提取离子流图见图 1。

### 2.2 样品提取及净化条件的优化

9 种生物胺的  $\text{pK}_a$  值为 5.5~10.5,酸性条件下为离子态,碱性条件下为分子态。首先尝试使用 5% 氨水甲醇进行提取,QuEChERS 净化。结果发现 5% 氨水甲醇对 9 种生物胺提取效率较为满意,但 QuEChERS 净化填料(EMR、HMR、C18、PSA 等)对生物胺有不同程度的吸附,腐胺、尸胺回收率为 10%~20%。根据生物胺的  $\text{pK}_a$ ,更换为阳离子交换树脂固相萃取小柱 MCX(60  $\text{mg}/3 \text{ mL}$ )净化,使生物胺以离子态上柱,分子态洗脱。因此使用 5% 三氯乙酸溶液提取,固相萃取小柱经甲醇、水活化,加入待净化液,依次用水、甲醇淋洗,5% 氨水甲醇洗脱,氮气



注:溶剂40%甲醇(含0.1%甲酸),腐胺、尸胺、亚精胺、精胺及其同位素内标 100 ng/mL,组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺及其同位素内标 10 ng/mL

图1 9种生物胺与同位素内标溶液提取离子流图

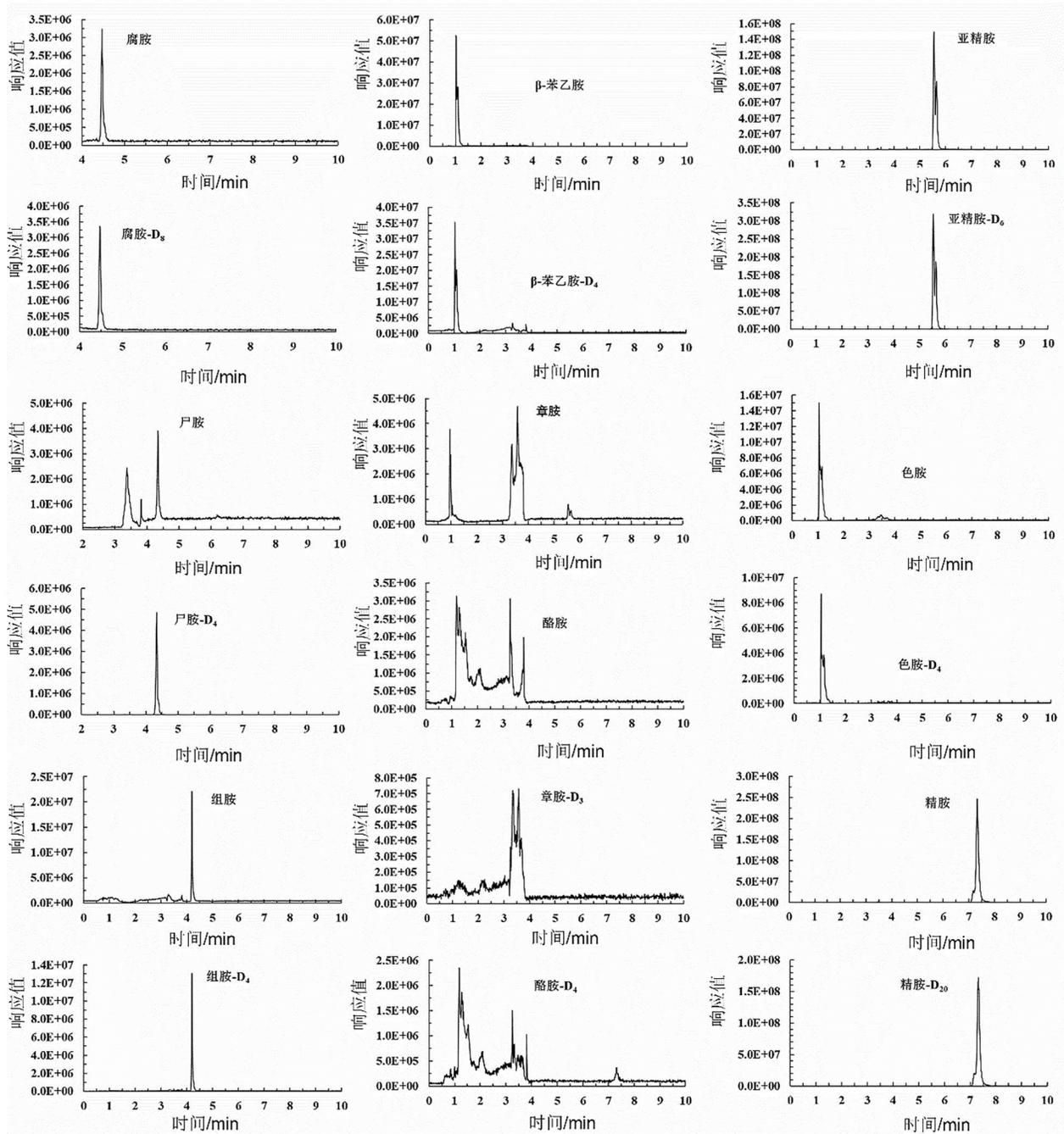
Figure 1 Extract ions chromatogram of 9 biogenic amines and isotopic internal standard solutions

吹干后 40% 甲醇(含 0.1% 甲酸)复溶。结果发现,腐胺、尸胺回收率仍不满意(20%~30%),考虑其具有一定的挥发性,氮吹时虽然仅使用了微弱气流,仍然影响了回收率。

为避免氮吹,尝试 5% 三氯乙酸提取,通过式固相萃取小柱净化去除杂质,用甲醇稀释 1 倍后直接过膜上机。首先对比了 C18 和 C8 固相萃取小柱(规格均为 100 mg/3 mL)鲫鱼、猪肉样品基质效应及加标回收率。将待净化液直接过柱,接收流出液,再用甲醇稀释 1 倍上机。结果显示,β-苯乙胺、

章鱼胺、酪胺、色胺及其内标无峰(图 2)。经研究发现是由于上机溶液酸度过大抑制了化合物响应。

降低提取溶液酸度,将 5% 三氯乙酸溶液提取改为 0.5% 三氯乙酸溶液提取。由于 5% 三氯乙酸溶液有沉淀蛋白的作用,离心后提取液较为澄清;0.5% 三氯乙酸溶液提取离心后有大量共存杂质,提取液呈胶状、浑浊。因此样品先加乙腈沉淀蛋白,再用 0.5% 三氯乙酸溶液提取。对乙腈的加入量进行了优化。发现乙腈加入量越高,对化合物峰的影响越大:加 20 mL 乙腈时,色胺、酪胺回收率几



注:溶剂5%三氯乙酸:甲醇=1:1,腐胺、尸胺、亚精胺、精胺及其同位素内标100 ng/mL,组胺、酪胺、色胺、章鱼胺、β-苯乙胺及其同位素内标10 ng/mL

图2 9种生物胺与同位素内标溶液提取离子流图

Figure 2 Extract ions chromatogram of 9 biogenic amines and isotopic internal standard solutions

乎为0;加10 mL乙腈时,色胺和章鱼胺峰面积变小,苯乙胺回收率为247%;加6 mL乙腈时,章鱼胺内标无峰,苯乙胺基质效应为50%,色胺回收率为140%;加2 mL乙腈提取时,效果最好。具体信息见图3。因此采用2 mL乙腈进行后续的实验。

随后对比了C18、DVB、PLS-A、EMR通过式固相萃取小柱(规格均为100 mg/3 mL)鲫鱼、猪肉样品基质效应及加标回收率(加标浓度:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺10 mg/kg,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、β-苯乙胺1 mg/kg)。发现PLS-A和EMR对目标物有不同的吸附,DVB和C18加标回收率较好,但DVB

精密度更好( $n=3$ )。可能由于DVB是聚苯乙烯-二乙烯苯聚合物,通过苯环及双键基团,对一些非极性中等极性杂质具有更好的吸附作用。

### 2.3 除脂方法的优化

水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)富含油脂,其提取的油脂容易干扰目标化合物的测定。实验对比了鲫鱼、猪肉样品正己烷和二氯甲烷除脂效果。用0.5%三氯乙酸溶液提取后,分别加入10 mL正己烷和10 mL二氯甲烷,混匀、离心后取下层溶液重复除脂1次。离心后取下层溶液用水稀释,DVB(100 mg/3 mL)小柱通过式净化。结果

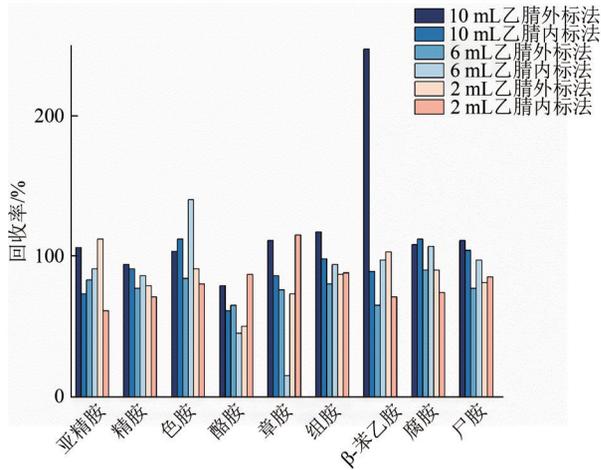
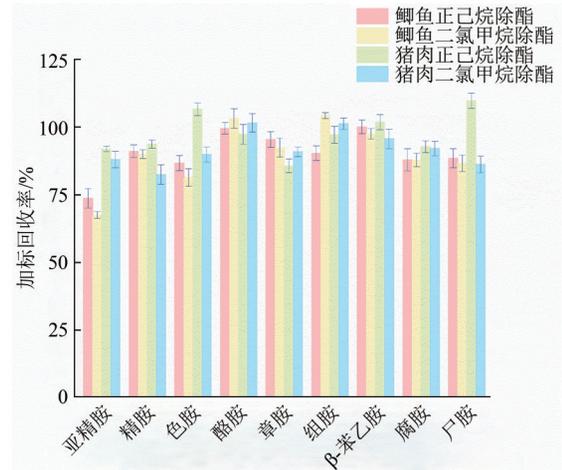


图3 不同乙腈加入量时各生物胺外标法及内标法回收率  
Figure 3 Recovery rates of biogenic amines (external/internal standard) vs. acetonitrile amount

如图 4 所示,两种提取方法回收率相当(加标浓度:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺 10 mg/kg,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、β-苯乙胺 1 mg/kg),都能满足需求。正己烷除脂的基质效应比二氯甲烷除脂的基质效应更优(图 5),所以使用正己烷除脂进行实验。

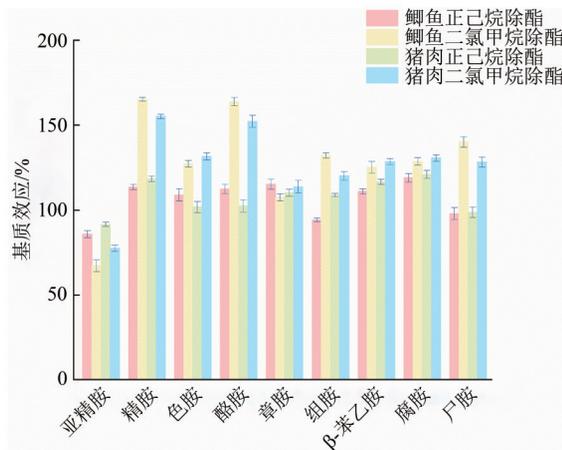
2.4 内标加入时机考察

由于水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺含量水平通常在 ppm 级别,而高效液相色谱-质谱/质谱仪灵敏度高,过高浓度进样会造成质谱污染。因此样品稀释倍数需达到 2 个数量级。同位素内标价格较高,若在样品提取及净化前加入(前加标),需要量较大,若在提取后、净化前加入(后加标),无法反映提取过程的误差。为明确提取过程带来的误差,本实验对比了内标及标准溶液在不同加入时间的回收率:前加标:称样后加入内标及标准溶液,用 0.5% 三氯乙酸溶液提取,正己烷除脂 2 次,DVB(100 mg/3 mL)小柱净化后进样;后加标:称样后,用 0.5% 三氯乙酸溶液提取,正己烷除脂 2 次,取下层样品溶液加入适量内标及标准溶液,用水定容至 1 mL,DVB(100 mg/3 mL)小柱净化



注:加标浓度:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺 10 mg/kg,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、β-苯乙胺 1 mg/kg

图4 正己烷和二氯甲烷鲫鱼、猪肉除脂加标回收率  
Figure 4 Recovery rates of n-hexane and dichloromethane for spiked crucian carp and pork



注:加标浓度:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺 10 mg/kg,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、β-苯乙胺 1 mg/kg

图5 正己烷和二氯甲烷鲫鱼、猪肉除脂基质效应  
Figure 5 Matrix effect of n-hexane and dichloromethane for crucian carp and pork

后进样。前、后加标均同时做基质效应。加标浓度:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺 10 mg/kg,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、β-苯乙胺 1 mg/kg。结果如表 4 所示,

表3 C18(100 mg/3 mL)和 DVB (100 mg/3 mL)鲫鱼、猪肉样品基质效应及加标回收率

Table 3 Matrix effects and spiked recovery rates of C18 (100 mg/3 mL) and DVB (100 mg/3 mL) for crucian carp and pork samples

C18	鲫鱼基质 质效应/%	猪肉基质 效应/%	加标回收率/%		RSD/%		DVB	鲫鱼基质 效应/%	猪肉基质 效应/%	加标回收率/%		RSD/%	
			鲫鱼	猪肉	鲫鱼	猪肉				鲫鱼	猪肉	鲫鱼	猪肉
亚精胺	70.5	81.5	96.9	99.7	3.8	3.6	亚精胺	90.8	93.5	70.8	92.8	1.8	2.0
精胺	104	112	97.8	95.5	5.6	4.5	精胺	115	125	79.1	88.7	2.6	3.8
色胺	60.8	50.3	64.2	67.4	4.5	5.2	色胺	110	105	81.3	109	3.4	3.9
酪胺	86.3	81.0	79.7	25.0	3.5	6.2	酪胺	120	110	104.6	105	2.2	4.5
章鱼胺	70.4	79.9	65.6	72.0	4.7	6.1	章鱼胺	113	117	107.2	88.5	3.1	4.3
组胺	91.0	98.6	89.6	88.7	5.8	4.8	组胺	98.4	102	98.2	105	4.3	2.8
β-苯乙胺	227	343	91.0	103	4.8	5.0	β-苯乙胺	113	120	99.4	111	2.9	2.0
腐胺	136	121	80.1	116	6.7	6.2	腐胺	122	128	81.1	114	3.2	3.7
尸胺	89.8	99.3	99.5	118	6.9	6.1	尸胺	109	113	82.2	109	4.6	4.6

注:RSD代表相对标准偏差

表4 鲫鱼、猪肉样品前、后加标基质效应及加标回收率

Table 4 Matrix effects and recovery rates of pre- and post spiked samples of crucian carp and pork

鲫鱼	基质效应/%	外标法回收率/%		内标法回收率/%		猪肉	基质效应/%	外标法回收率/%		内标法回收率/%	
		前加标	后加标	前加标	后加标			前加标	后加标	前加标	后加标
亚精胺	93.6	70.8	87.4	92.0	98.7	亚精胺	90.2	78.0	92.4	90.7	89.5
精胺	125	79.6	88.3	88.5	81.1	精胺	122	86.6	105	78.3	89.6
色胺	105	81.3	89.6	108	124	色胺	90.2	64.7	133	110	114
酪胺	109	104	95.5	104	104	酪胺	135	103	128	95.8	89.9
章鱼胺	116	108	113	88.3	98.4	章鱼胺	141	81.5	136	83.7	88.3
组胺	103	98.8	93.5	104	86.1	组胺	116	93.1	92.5	98.8	90.5
$\beta$ -苯乙胺	121	69.9	70.4	112	101	$\beta$ -苯乙胺	82.8	79.3	51.5	110	111
腐胺	127	81.8	77.0	114	105	腐胺	124	82.5	84.2	118	107
尸胺	113	82.4	92.3	108	104	尸胺	112	86.9	83.3	106	104

前加标与后加标回收率均较为满意,本方法提取效率满足要求。为节约成本,采用在提取后(净化前)加内标溶液。

### 2.5 方法学参数

本实验采用内标法定量,9种生物胺分别在0.5~50、5~500 ng/mL范围内相关性良好,相关系数 $r>0.996$ 。以信噪比( $S/N$ )=3和 $S/N=10$ 确定9种生物胺测定方法的检出限为0.1~1 mg/kg,定量限

为0.3~3 mg/kg,详见表5。分别在水产品(鱼、虾、贝)、肉类(猪肉、牛肉、羊肉)样品中加入腐胺、尸胺、精胺、亚精胺2、10、40 mg/kg浓度,组胺、色胺、酪胺、章鱼胺、 $\beta$ -苯乙胺0.2、1、4 mg/kg浓度水平的标准溶液做加标回收实验,按1.3进行样品处理,每个浓度水平平行测定6次。结果显示平均回收率为70.6%~119%,相对标准偏差 $<10\%$ 。方法学结果较为满意。加标实验结果见表6。

表5 9种生物胺线性范围、回归方程、相关系数及定量限

Table 5 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients, and quantification limits of 9 biogenic amines

化合物	线性范围/(ng/mL)	线性方程	相关系数/ $r$	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
腐胺	5~500	$y=0.0143x-0.00747$	0.998	1	3
尸胺	5~500	$y=0.0129x-0.0131$	0.998	1	3
组胺	0.5~50	$y=0.278x-0.0685$	0.996	0.1	0.3
酪胺	0.5~50	$y=0.0232x-0.00899$	0.996	0.1	0.3
色胺	0.5~50	$y=0.253x+0.0215$	0.999	0.1	0.3
章鱼胺	0.5~50	$y=0.0890x+0.00826$	0.999	0.1	0.3
$\beta$ -苯乙胺	0.5~50	$y=0.195x-0.00149$	0.999	0.1	0.3
亚精胺	5~500	$y=0.325x+0.0468$	0.999	1	3
精胺	5~500	$y=0.469x+0.0166$	0.999	1	3

### 2.6 实际样品测定

购买市售的水产品(鱼、虾、贝各4份)和肉类(猪、牛、羊各4份)样品,按照1.3进行样品前处理,内标法定量,结果见表7。

水产品(鱼、虾、贝)中生物胺总平均含量(107 mg/kg)高于肉类(猪肉、牛肉、羊肉)(69.3 mg/kg),腐胺、尸胺、 $\beta$ -苯乙胺、酪胺、亚精胺平均含量高于肉类(猪肉、牛肉、羊肉),组胺、色胺、精胺平均含量低于肉类(猪肉、牛肉、羊肉)。

水产品(鱼、虾、贝)中检出率最低的为章鱼胺,未检出;检出率最高的为尸胺(100%)和酪胺(83.3%),含量分别在1.2~142.0 mg/kg、0.3~162.1 mg/kg;肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中检出率最低的是 $\beta$ -苯乙胺和章鱼胺,均未检出;检出率最高的是尸胺(100%)、亚精胺(100%)和精胺(100%),含量分别在1.0~161.4 mg/kg、1.2~10.3 mg/kg和10.1~25.1 mg/kg。

水产品(鱼、虾、贝)中生物胺 $P_{50}$ 含量排序为酪胺(Tyr, 64.0 mg/kg)>精胺(Spm, 10.2 mg/kg)>腐胺

(Put, 7.1 mg/kg)>色胺(Try, 5.6 mg/kg)>亚精胺(Spd, 5.0 mg/kg)>尸胺(Cad, 2.9 mg/kg)>组胺(His, 1.6 mg/kg)= $\beta$ -苯乙胺(2-Phe, 1.6 mg/kg)>章鱼胺(Oct, 未检出)。

肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺 $P_{50}$ 含量大小排序为精胺(Spm, 18.5 mg/kg)>组胺(His, 8.7 mg/kg)>酪胺(Tyr, 8.4 mg/kg)>尸胺(Cad, 6.7 mg/kg)>色胺(Try, 5.7 mg/kg)>腐胺(Put, 3.2 mg/kg)>亚精胺(Spd, 2.2 mg/kg)> $\beta$ -苯乙胺(2-Phe, 未检出)=章鱼胺(Oct, 未检出)。

### 3 讨论

水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺的含量受环境条件(温度及pH)、原料新鲜度、原料种类(蛋白质及氨基酸差异)、所含微生物的影响<sup>[21]</sup>。与肉类相比,水产品通常含有更高比例的氨基酸,为其在贮藏过程中微生物的生长提供了丰富的底物。RESTER等<sup>[22]</sup>指出,富含组氨酸(深

表6 水产品 and 肉类生物胺加标回收率及精密度(n=6)

Table 6 Recovery rate and precision of biogenic amines in aquatic and meat products (n=6)

化合物	加标量/ mg/kg	鱼		虾		贝		猪		牛		羊	
		回收率/%	RSD/%										
腐胺	2	74.0	8.2	73.4	3.3	106	7.0	81.7	6.6	100	4.9	73.9	6.7
	10	83.2	6.6	75.4	4.7	111	7.8	86.4	6.1	87.7	4.3	89.2	4.2
	40	85.7	5.2	76.5	3.2	113	4.8	90.7	7.1	114	3.4	85.0	5.4
尸胺	2	82.1	7.8	87.8	6.1	78.0	5.0	75.6	7.4	109	5.7	101	7.3
	10	88.2	6.0	84.1	4.9	97.6	3.2	78.9	6.7	89.7	2.8	105	5.2
	40	94.8	5.7	85.2	4.1	97.9	4.4	87.0	5.3	97.2	2.4	96.3	4.8
组胺	0.2	88.2	7.2	101	4.6	70.6	3.2	99.3	6.3	98.1	5.5	80.5	5.9
	1	96.3	3.8	112	5.1	85.5	4.3	98.4	4.9	107	6.5	82.0	3.9
	4	96.8	2.8	108	3.8	101	3.0	103	4.2	116	4.5	108	2.8
酪胺	0.2	87.0	5.6	107	6.7	105	5.4	83.7	5.7	113	6.2	88.9	2.7
	1	95.2	4.6	94.7	3.6	112	5.7	88.1	3.2	107	5.8	80.5	2.1
	4	97.1	2.9	89.5	5.1	105	4.4	94.0	3.5	115	4.6	81.2	2.7
色胺	0.2	92.0	5.7	82.9	4.3	85.5	4.3	86.0	4.6	105	7.0	104	8.5
	1	95.9	2.9	92.0	4.9	95.7	5.2	84.9	4.4	92.4	5.1	92.8	5.1
	4	98.2	3.1	116	5.1	102	3.2	92.7	4.0	105	3.0	108	3.8
章鱼胺	0.2	88.2	6.2	83.7	8.8	80.9	4.9	84.0	5.5	99.3	9.2	83.9	3.4
	1	87.6	5.1	88.5	7.7	95.8	6.3	91.2	4.2	96.3	6.7	95.8	4.8
	4	93.3	3.3	99.0	5.7	83.9	2.9	94.2	4.1	113	5.5	111	3.2
β-苯乙胺	0.2	81.0	7.1	103	4.8	102	6.1	79.9	4.6	73.1	7.9	74.2	6.5
	1	89.2	5.2	110	4.2	90.6	4.7	84.2	4.2	89.7	5.0	90.7	6.9
	4	92.3	4.3	107	4.1	94.5	4.7	96.3	3.1	113	3.1	101	6.1
亚精胺	2	82.5	5.8	89.1	5.3	102.9	7.1	78.8	6.3	102	4.5	87.0	9.7
	10	88.4	4.3	97.9	3.8	106	5.3	81.5	5.4	109	3.4	90.0	5.0
	40	95.1	3.1	85.2	4.5	118	3.3	85.2	5.2	97.0	5.3	84.9	5.3
精胺	2	80.6	4.0	89.3	5.0	84.0	2.2	82.1	4.3	113	6.0	91.0	6.3
	10	82.4	3.5	76.5	4.1	112	2.8	85.5	4.5	118	5.8	83.1	3.2
	40	88.1	3.2	82.0	2.8	112	2.5	87.1	3.0	119	4.4	94.0	3.5

表7 水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺测试

Table 7 Content of biogenic amine in aquatic and meat samples

含量/(mg/kg)	腐胺	尸胺	组胺	β-苯乙胺	章鱼胺	酪胺	亚精胺	色胺	精胺
鱼1	11.5	8.7	2.00	<0.1	<0.1	0.3	2.4	<0.1	4.9
鱼2	<1.0	1.5	1.58	<0.1	<0.1	<0.1	2.0	<0.1	<1.0
鱼3	<1.0	1.3	1.62	<0.1	<0.1	0.3	1.3	<0.1	<1.0
鱼4	3.0	2.7	0.79	<0.1	<0.1	45.6	<1.0	<0.1	<1.0
虾1	33.6	3.1	<0.1	0.3	<0.1	78.2	<1.0	0.2	<1.0
虾2	<1.0	1.5	2.15	<0.1	<0.1	82.5	<1.0	<0.1	<1.0
虾3	1.1	1.9	1.05	<0.1	<0.1	34.0	<1.0	<0.1	<1.0
虾4	<1.0	1.2	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<1.0	<0.1	<1.0
贝1	2.8	53.6	3.12	46.1	<0.1	73.4	6.4	10.7	8.4
贝2	1.4	142.0	0.38	1.6	<0.1	130.8	5.0	0.8	10.2
贝3	11.3	93.7	0.81	0.1	<0.1	162.1	10.5	<0.1	29.8
贝4	12.1	14.6	<0.1	38.7	<0.1	54.5	5.6	10.4	27.8
水产品平均值/(mg/kg)	9.6	27.2	1.5	17.4	<0.1	66.2	4.7	5.5	16.2
水产品检出率/%	66.7	100.0	75.0	41.7	0.0	83.3	58.3	33.3	41.7
猪1	<1.0	1.0	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1.2	<0.1	13.6
猪2	<1.0	1.0	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	2.5	<0.1	18.2
猪3	<1.0	1.7	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	1.6	<0.1	18.5
猪4	15.1	161.4	<0.1	<0.1	<0.1	80.8	1.8	5.7	19.7
牛1	2.0	25.9	9.2	<0.1	<0.1	49.0	2.0	<0.1	25.1
牛2	4.0	18.0	8.1	<0.1	<0.1	43.1	2.3	<0.1	17.6
牛3	<1.0	1.1	8.0	<0.1	<0.1	0.3	2.1	<0.1	18.5
牛4	2.4	24.0	9.9	<0.1	<0.1	44.6	1.4	<0.1	24.0
羊1	<1.0	13.7	<0.1	<0.1	<0.1	14.3	4.9	<0.1	23.3
羊2	<1.0	2.4	<0.1	<0.1	<0.1	0.3	7.0	<0.1	23.2
羊3	<1.0	5.4	<0.1	<0.1	<0.1	2.6	10.3	<0.1	10.1
羊4	<1.0	8.1	<0.1	<0.1	<0.1	1.8	5.0	<0.1	12.1
肉类平均值/(mg/kg)	5.9	22.0	8.8	<0.1	<0.1	23.7	3.5	5.7	18.7
肉类检出率/%	33.3	100.0	33.3	0.0	0.0	83.3	100.0	8.3	100.0

色肌肉)的鱼与缺乏组氨酸(白色肌肉)的鱼相比,更容易形成组胺。而与鱼类相比,头足类和贝类等水产品中形成的组胺含量相对较低,但如存储不当时,多胺水平可能相对较高。本研究水产品中尸胺(1.2~142.0 mg/kg)和酪胺(0.3~162.1 mg/kg)的含量范围与 RUIZ 和 CLAUDIA 等<sup>[23]</sup>对水产品的研究结果相似,均发现了因微生物脱羧酶作用导致的特征胺含量显著升高的现象。

精胺和亚精胺是生物体细胞内调节生长和代谢的重要成分,在哺乳动物肌肉组织中通常保持相对稳定的浓度<sup>[24]</sup>。本研究肉类中精胺和亚精胺的含量较高且检出率稳定,这与此类胺类的内源性特性相符。研究发现新鲜猪肉中其余生物胺含量较低,在腐败时可检测出较高含量的尸胺和腐胺<sup>[25]</sup>。牛肉在贮藏期可检测到一定量的组胺,腐胺的含量变化不明显,酪胺和尸胺的水平与贮存时间相关<sup>[26]</sup>。本研究中,猪肉腐胺、尸胺含量较低,牛肉尸胺、酪胺含量较高,可能代表着所采集猪肉样品比牛肉样品更为新鲜。

#### 4 结论

本研究建立了水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中9种生物胺的测定方法,采用高效液相色谱-质谱/质谱技术,结合固相萃取小柱,对方法的样品提取、净化等进行了详细的优化。经验证,方法具有较高的灵敏度与准确性。本方法避免了衍生操作,提高了实验的可操作性与结果稳定性,实现9种生物胺的有效分离和准确测定,并对水产品(鱼、虾、贝)及肉类(猪肉、牛肉、羊肉)中生物胺含量进行了分析。水产品中较高的生物胺总量,特别是腐胺、尸胺和酪胺的含量,主要与其富含氨基酸的特性及腐败微生物的强产胺能力有关。而肉类中生物胺的组成则更多地体现了内源性胺(精胺、亚精胺)的稳定性。本研究结果为了解市售动物性食品中生物胺的污染状况提供了数据支持,可以为监管部门制定食品中生物胺限值提供方法参考。

#### 参考文献

[1] JIA R N, TIAN W G, BAI H T, et al. Amine-responsive cellulose-based ratiometric fluorescent materials for real-time and visual detection of shrimp and crab freshness[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 519-524.

[2] 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 Y N, LI H, CHEN J, et al. Research progress on biogenic amine detection technology for aquatic products[J]. *Food Science*,

2021, 42(15): 269-277

- [3] 陈雪莹,樊静静,宋书锋,等.偶氮染色-光谱法快速检测牛乳中组胺和酪胺含量[J].*中国食品卫生杂志*, 2022, 34(5): 943-946.
- CHEN X Y, FAN J J, SONG S F, et al. Rapid detection of histamine and tyramine content in milk by azo staining spectroscopic method[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2022, 34(5): 943-946
- [4] 王璐,孙小杰,耿岳,等.非衍生化-QuEChERS-超高效液相色谱-质谱/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): 270-276.
- WANG L, SUN X J, GENG Y, et al. Rapid determination of 9 biogenic amines in fish meat by non derivatized QuEChERS ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2023, 14(3): 270-276
- [5] VERONICA S, GIOVANNI C, MASSIMO R, et al. Simultaneous determination of ten underivatized biogenic amines in meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS)[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2014, 49: 819-825.
- [6] 华永有,陈碧榕,周丽,等.液相色谱-质谱/质谱法测定发酵肉制品中5种生物胺的含量[J].*理化检验-化学分册*, 2023, 59(3): 310-314.
- HUA Y Y, CHEN B L, ZHOU L, et al. Determination of Five Biogenic Amines in Fermented Meat Products by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. *Physical and Chemical Testing Chemical Volume*, 2023, 59(3): 310-314
- [7] WANG H P, ZHANG H W, LIU S T, et al. Analysis of biogenic amine in dry sausages collected from northeast China: From the perspective of free amino acid profile and bacterial community composition[J]. *Food Research International*, 2022, 162, 112084.
- [8] LEONA B, JAKUB R, KHATANTUUL P, et al. Biogenic amines in white brined cheeses[J]. *Foods*, 2025, 14(3): 369.
- [9] 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 W S, et al. Investigation and analysis of biogenic amines in different fermented soy products[J]. *Journal of Food Safety and Quality Testing*, 2020, 11(1): 298-305
- [10] LI T, WANG R G, WANG P L. The development of an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for biogenic amines in fish samples[J]. *Molecules*, 2023, 28(1): 184.
- [11] CHEN S Y, AH K L, MEOW L C, et al. Determination of biogenic amines in chicken, beef, and mutton by dansyl chloride microwave derivatization in Malaysia[J]. *Journal of Food Science*, 2023, 1-16.
- [12] 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 biogenic amines and their metabolites in liquid fermented foods by high-performance liquid chromatography triple quadrupole/composite linear ion trap mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2024, 15(4): 87-97

- [13] MILLÁN S, SAMPEDRO M C, UNCETA N, et al. Simple and Rapid Determination of Biogenic Amines in Wine by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Ion Trap Mass Spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 584: 145-152.
- [14] 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 Biogenic Amines in Wine by Gas Chromatography Electron Capture Detector [J]. *China Brewing*, 2023, 42(2): 228-234
- [15] ERDENETSETSEG N, ANDREA G, ULADZISLAU V, et al. Comparative Analysis of Amino Acid and Biogenic Amine Compositions of Fermented Grape Beverages [J]. *Metabolites*, 2023, 13(8): 892.
- [16] 史沁芳, 田小艳, 余文琴, 等. QuEChERS-高效液相色谱-质谱/质谱法测定禽蛋中10种氨基糖苷类药物残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(11): 53-62.  
SHI Q F, TIAN X Y, YU W Q, et al. QuEChERS - Determination of 10 Aminoglycoside Drug Residues in Poultry Eggs by High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2024, 15(11): 53-62
- [17] 黄晓艳, 于晓慧, 张萍. 高效液相色谱-二酰胺基色谱柱HILIC模式下对人参口服液中三种人参皂苷的测定[J]. *山东化工*, 2024, 53(14): 170-175.  
HUANG X Y, YU X H, ZHANG P. Determination of Three Ginsenosides in Ginseng Oral Liquid by High Performance Liquid Chromatography with Diamide Column HILIC Mode [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2024, 53(14): 170-175
- [18] 姚凯, 张晶, 张昕, 等. 超高效液相色谱-质谱/质谱法测定进口冷链食品外包装表面的三聚氰酸[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(12): 1715-1721.  
YAO K, ZHANG J, ZHANG X, et al. Determination of Cyanuric Acid on the Surface of Imported Cold Chain Food Packaging by Ultra High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2023, 35(12): 1715-1721
- [19] 唐敏敏, 邵雪梅, 高巍, 等. 双官能团化介孔二氧化硅材料的合成及其在氨基糖苷类药物检测中的应用[J]. *食品科学*, 2023, 44(18): 372-380.  
TANG M M, SHAO X M, GAO W, et al. Synthesis of bifunctional mesoporous silica materials and their application in the detection of aminoglycoside drugs [J]. *Food Science*, 2023, 44(18): 372-380
- [20] 丁一, 薛霞, 卢兰香, 等. 通过式固相萃取-高效液相色谱法测定小麦粉及面粉处理剂中的硫脲[J]. *中国食品卫生杂志*, 2022, 34(4): 750-754.  
DING Y, XUE X, LU L X, et al. Determination of Thiourea in Wheat Flour and Flour Processing Agents by Solid Phase Extraction High Performance Liquid Chromatography [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2022, 34(4): 750-754.
- [21] 车明秀, 李思龙, 孙德鹏, 等. 水产品中生物胺形成与控制研究进展[J]. *广东海洋大学学报*, 2025, 45(2): 141-146.  
CHE M X, LI S L, SUN D P, et al. Research Progress on the Formation and Control of Biogenic Amines in Aquatic Products [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2025, 45(2): 141-146.
- [22] RESTER L. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2011, 28(11): 1547-1560.
- [23] RUIZ-CAPILLAS, CLAUDIA. Biogenic amine production in Spanish dry-cured "chorizo" sausage treated with high-pressure and kept in chilled storage [J]. *Meat Science*, 2007, 77: 365-371.
- [24] 杨春婷, 赵晓娟, 白卫东. 肉类中的生物胺形成及其在肉类新鲜度评价中的应用研究进展[J]. *肉类研究*, 2017, 31(1): 55-59.  
YANG X T, ZHAO X J, BAI W D. Research progress on the formation of biogenic amines in meat and their application in meat freshness evaluation [J]. *Meat Research*, 2017, 31(1): 55-59.
- [25] 杨雪, 徐中其. 毛细管电泳间接紫外法分析存储温度和热加工肉类食品中生物胺含量的影响[J]. *东华大学学报(自然科学版)*, 2023, 49(3): 143-148.  
YANG X, XU Z Q. Analysis of the effects of storage temperature and thermal processing on biogenic amine content in meat products by capillary electrophoresis with indirect ultraviolet detection [J]. *Journal of Donghua University (Natural Science Edition)*, 2023, 49(3): 143-148.
- [26] KANIYOU I, SAMOURIS G, MOURATIDOU T, et al. Determination of biogenic amines in fresh unpacked and vacuum-packed beef during storage at 4 °C [J]. *Food Chemistry*, 2001, 74(4): 515-519.