

生物胺的检测方法评价

刘辰麒 丁卓平* 王锡昌

(上海水产大学食品学院 上海 200090)

E-mail: zpdng@shfu.edu.cn

摘 要 生物胺是一类含氮低分子化合物,对动植物和微生物有重要的生理作用。适量的生物胺有助于人体正常的生理功能,过量则会引起不良的生理反应。目前国内外食品中的生物胺的检测主要采用液相色谱,一般仅是组胺检测。实际上许多食品中还含有其它生物胺(腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、色胺、尸胺、苯乙胺、章鱼胺),且其存在会对组胺的毒性有协同作用。因此,多组分生物胺的同时检测对于食品的安全和水产品出口有着重要的意义。本文对国内外比较常见的生物胺检测方法作了叙述和比较。

关键词 生物胺;生物胺检测;食品安全

中图分类号 0657.72;0623.731

Appraisal of Biogenic Amines Determination

Liu Chenqi, Ding Zhuoping*, Wang Xichang

(College of Food Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract Biogenic amines are aliphatic, alicyclic or heterocyclic organic bases of low molecular mass, which arise as a consequence of metabolic processes in animal, plants and microorganisms. They can also cause unnatural or toxic effects when they are consumed in large amounts. A high performance liquid chromatographic method is described as the main method of determining biogenic amines in food, especially histamine. There are also many biogenic amines to be determined, such as: tryptamine, octopamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, tyramine, spermidine, and spermine. So it is meaningful and worthwhile for aquatic products export and food safety that different kinds of biogenic amines can be determined together. In this article, the different determination methods of biogenic amines are introduced and compared.

Key words Biogenic amines; determination of biogenic amines; food safety

1 引言

生物胺是一类含氮的低分子量有机化合物的总称。根据结构可以把生物胺分成3类:脂肪族:腐胺、尸胺、精胺、亚精胺等;芳香族:酪胺、苯乙胺等;杂环族:组胺、色胺等。

1.1 生理作用

各种动植物的组织中都含有少量的生物胺,也普遍存在于多种食品和酒、饮料中。生物胺不仅是生成荷尔蒙、核酸、蛋白质的前体,也是生成致癌物质的前体。少量的生物胺对人体有益,如儿茶胺、组胺等能调节神经活动,控制血压;苯乙胺和酪胺有升压作用。过量摄入则会引起中毒。

1.2 生物胺引起的食品安全和水产品出口问题

生物胺中组胺对人类的健康的影响最大,其次是酪胺。摄入8~40mg组胺产生轻微中毒症状,超过40mg产生中等中毒症状,超过100mg产生严重中毒症状。酪胺超过100mg会引起偏头痛。当食品中生物胺含量达到

1000mg·kg⁻¹时会对人体健康造成极大的危害。除了组胺、酪胺本身的作用外,其他生物胺的存在会增强组胺和酪胺的不良作用。因此,很难确定一个标准来衡量生物胺的毒性。美国FDA通过对爆发组胺中毒的大量数据的研究,确定食品中组胺的危害作用水平为:500mg·kg⁻¹;欧盟规定鲭科鱼类中组胺含量不得超过100mg·kg⁻¹,其他食品中组胺不得超过100mg·kg⁻¹,酪胺不得超过100~800mg·kg⁻¹;我国规定鲑鱼中组胺不得超过1000mg·kg⁻¹,其他海水鱼不得超过300mg·kg⁻¹[1]。我国水产品出口企业如没有重视生物胺的检测,出口产品易遭罚没,而造成严重的经济损失。

2 生物胺检测方法

胺的分析方法包括HPLC、TLC和酶联免疫分析等。组胺等生物胺含有-NH₂能形成氢键,所以常用的方法是HPLC-FLD、HPLC-UV。国内没有同时测定多种生物胺(8种以上)的检测方法。

收稿日期:2006-05-09

基金资助:上海市重点学科建设项目(编号:T1102);上海科委标准专项(编号:04DZ05018)

作者简介:刘辰麒(1982-),硕士研究生,研究方向:食品安全与营养。

*通信作者:丁卓平(1957-),副教授。

现代科学仪器 2006 4

89

2.1 国内文献有关生物胺的测定方法^[2]

采用高效液相色谱法,以1,6-己二胺为内标,测定柿子中的精胺、亚精胺、尸胺和腐胺。样品经丹酰氯衍生,硅胶柱净化,Lichrosorb NH₂柱(5 μ m, 200mm \times 4.0mm)分离后,以氯仿:乙酸乙酯:三乙胺(98.4:1.5:0.1)为流动相,流速为1.5mL \cdot min⁻¹,荧光检测器检测。激发波长为336nm,发射波长为495nm,精胺、亚精胺、尸胺和腐胺的线性相关系数均大于0.99,其回收率分别为98.99%、94.02%、96.46%和105.44%。生物胺定量检测限1-5mg \cdot kg⁻¹。

2.2 国外文献有关生物胺的测定方法

2.2.1 7-氟-4-硝基苯并二唑(NBD)柱前衍生/毛细液相色谱-串联质谱法测定生物胺^[3]

生物胺包括色胺、组胺和胍丁胺,进行衍生反应后,在毛细柱(20m \times 0.25mm C₈ 5 μ m)上分离,选择电喷雾离子化,碰撞诱导解离(CID)得到特征的子离子。胍丁胺是一种潜在的神经递质。胍丁胺的检测限为0.6ng \cdot mL⁻¹(信噪比=3),在15-1000ng \cdot mL⁻¹浓度范围内,线性相关系数为0.9997。此方法优点是能准确地定性定量,但对仪器要求较高,经济性和普及性都不好,测定的胺种类较少。

2.2.2 丹酰氯(Dansyl chloride)柱前衍生高效液相色谱法测定生物胺^[4-5]

HPLC检测香肠中的色胺,苯乙胺,腐胺,尸胺,组胺,5-羟基色胺,酪胺,亚精胺和精胺。用高氯酸处理、丹酰氯衍生后,用氨水去除尸胺附近的干扰峰。C₁₈反相色谱柱梯度分离,流动相为乙腈:甲醇:水:乙酸=43:30:26:1。紫外检测器(λ =254nm),流速为1.0mL \cdot min⁻¹,该方法对于单个胺的检测限是1-5mg \cdot kg⁻¹。线性相关系数都要大于0.9999。丹酰氯衍生法是一种简单,可靠,实用的方法,选用微波反应系统能大量缩短实验时间,衍生产物稳定。

2.2.3 苯甲酰氯(benzoyl chloride)柱前衍生高效液相色谱法测定生物胺^[6-7]

以苯甲酰氯为柱前衍生剂,用HPLC检测生物胺是一种快速,灵敏的方法。最佳衍生条件:30, 40min;线性范围在0.02-4 μ m之间。用6%的三氯乙酸处理。梯度洗脱(在4min内,甲醇:水=55:45到80:20),C₁₈柱分离,紫外检测器检测(254nm),流速为1.0mL \cdot min⁻¹。该方法的主要特点与丹酰氯衍生法类似,产物稳定,实验简便。但衍生时间长,样品中其它杂质能与苯甲酰氯反应形成干扰峰。在前处理中使用固相萃取,以及调节好流动相极性对于分离杂质峰与生物胺是非常关键的。

2.2.4 邻苯二醛(o-phthalaldehyde)柱后衍生高效液相色谱法测定生物胺^[8-9]

邻苯二醛(OPA)作为一种常用的柱后衍生剂,其特

点衍生反应快,但产物不稳定易分解,先通过乙酸乙酯把生物胺从样品中萃取出来,C₁₈反相色谱柱分离,梯度洗脱(在15min内,0.08mol \cdot L⁻¹醋酸:甲醇:乙酸胺=52:45:3到0:100:0),OPA柱后衍生,荧光检测器(入射波长=340nm,发射波长=440nm)进行检测。其检测限在100-300 μ m \cdot L⁻¹之间,线性范围为0.5-15mg \cdot L⁻¹,柱温:40 $^{\circ}$ C。流速为1.0mL \cdot min⁻¹。此方法特点是快速、灵敏、产物不稳定易分解,柱后衍生还需要添置柱后衍生装置,在实验室条件允许的情况下可选用这种方法。

2.2.5 荧光胺(fluorescamine)柱后衍生高效液相色谱法测定生物胺^[8]

根据国外文献报道,荧光胺曾用来检测酒中的生物胺。取样加pH=8.0的硼酸缓冲溶液,充分混匀,C₁₈反相色谱柱分离,梯度洗脱(在20min内,0.08mol \cdot L⁻¹醋酸:甲醇:乙酸胺=48:46:6到0:100:0)荧光胺浓度为0.5mg \cdot mL⁻¹柱后衍生,用荧光检测器检测(入射波长=395nm,发射波长=460nm)。流速为1.0mL \cdot min⁻¹。该方法分离检测8种单氨基胺的混合标准品耗时不过30min。但在衍生过程中双氨基或多氨基的生物胺会产生多个吸收峰,对分离产生影响,因此检测的胺种类少,有一定局限性。荧光胺法的特点是快速、灵敏,与邻苯二醛法类似,但产物不稳定,需添置额外柱后衍生装置。

3 结论

国内外检测方法都以HPLC,衍生剂以丹酰氯和苯甲酰氯等柱前衍生剂居多,其特点是简便、快速、灵敏、稳定,能同时处理大量样品,用HPLC紫外检测器,是值得推广的检测方法。

荧光胺和OPA作为柱后衍生剂,特点是快速、灵敏度更高,但产物不稳定,分解快,需要使用柱后衍生装置和荧光检测器,根据报道荧光胺多用在测定酒类中的生物胺,分离测定食品种类有限。

7-氟-4-硝基苯并二唑(NBD)柱前衍生/毛细液相色谱-串联质谱法测定生物胺也是一种可靠、灵敏的方法,但要使用到LC-MS/MS,作为一种日常的检测的方法不大合适。

综上所述,就方法的可靠性,成熟性,可操作性而言,选用柱前衍生剂丹酰氯或苯甲酰氯、HPLC-UV法测定多种生物胺是比较合适的。

参考文献

- [1]李志军. 生物胺与食品安全[J]. 食品与发酵工业, 2004, 7
- [2]吴筱丹,等. 理化检验[B]. 化学分册, 2004, 40(2): 72
- [3]Yaru Song, Zhe Quan, Joseph L.Evans et al. [J]. Enhancing capillary liquid chromatography/tandem mass spectrometry of biogenic amines by pre-col-

- umn derivatization with 7-fluoro-4-nitrobenzoxadiazole. *Rapid Commun, Mass Spectrum* 2004, 18, 989-994
- [4] Julia Y. Hui & Steve L. Taylor. [J]. High pressure liquid chromatographic determination of putrefactive amines in foods. *Analysis Chemistry*. 1983, vol 66, No. 4 P853-P857
- [5] Rosa M. Linares, Juan H. Ayala, Ana M. Afonso and Venerando Gonzalez Diaz [J] Rapid microwave-assisted dansylation of biogenic amines: Analysis by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*. 1998, 808, 87-93
- [6] Gow-Chin Yen and Chiu-Luan Hsien, [J]. Simultaneous analysis of biogenic amines in canned fish by HPLC. *Journal of Food Science*, 1991, Volume 56, No1, 158-160
- [7] Deng-Fwu Hwang, Sheng-Hsiung Chang, Chyuan-Yuan Shiue et al. [J]. High-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in fish implicated in food poisoning. *Journal of Chromatography B* (1997) 693, 23-30
- [8] Carole Buteau and Cyriel Louis Duitschaever, [J]. High-performance liquid chromatographic detection and quantitation of amines in must and wine. *Journal of Chromatography*, 1984, 284, 201-210
- [9] BUSTO O, MIRACLE M, GUASCH J, et al. [J]. Determination of biogenic amines in wines by high-performance liquid chromatography with on-column fluorescence derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1997, 757: 311-318

美国国土安全部选用热电新一代谱仪门式探测器(ASP)加强国土安全

世界领先的分析仪器研发和制造商 - 热电公司近日宣布美国国土安全部国内核探测办公室 (DNDO) 已选定该公司为其提供高性能的先进的谱仪门式探测器 (ASP)。作为美国安全倡议的一部分, 热电的 ASP 探测器将会被用来监测和阻止不法核武器和放射性材料通过入境口岸和海关进入美国。

最新一代的监测系统将成为国家核监测基础设施的组成部分, 用来支持美国国土安全部保护国家免受恐怖袭击的使命。该 ASP 监测系统已在美国内华达州测试场成功地通过了测试, 展示了热电公司在满足国内核探测办公室 (DNDO) 对于新一代高水平的辐射探测系统的性能要求的能力。

在美国全境, 每天大约有 64000 个集装箱通过船只, 车辆和火车进入美国。通过对选择性、灵敏度、检测几率和误报警率进行优化, 热电公司的 ASP 探测器可以帮助美国的安检人员在做出决定之前获得可靠的信息, 保护国土安全。根据 ASP 计划的要求, 美国政府计划在未来几年为超过 380 个港口和入境口岸部署辐射探测设备。每天通过美国的入境口岸的车辆有 36 万 5 千多辆, 热电公司的 ASP 探测设备将为国土安保人员配备他们需要的快速清除误判和发现真实核威胁的技术。

“热电与美国国土安全部的合作证明了公司致力于为国家现今和未来的安全需要提供最先进的核辐射测量和探测解决方案的战略,” 热电的高级副总裁 MC 指出, “热电经验丰富的人员和核探测设备生产的经验说明公司做好了支持政府大规模部署计划的准备, 这将在未来五年产生超过二亿美元的收入。” 本次合同金额总计达到一千四百六十万美元。

热电公司在全世界已经安装了超过三千套门式辐射检测系统, 一直专注于保护人员和财产免受辐射威胁的研究。热电公司在核技术方面有超过 50 年的经验, 包括设计, 生产, 部署, 服务, 并对几千个辐射检测系统进行不断改进。热电公司发明了工业领先的辐射探测仪器和系统并使之成功商业化, 包括门式, 便携式和移动式的仪器和系统, 被公认为是行业最先进的产品, 这展现了其对市场的专注和良好业绩, 服务于全球核电, 国防, 医药和安检市场的需要。

关于热电公司

热电公司是世界领先的分析仪器研发和制造公司。我们为客户提供仪器解决方案使整个世界更健康、更干净、更安全。热电生命和实验室科学部分为生命科学、新药开发、临床医学、环境和工业实验室提供分析仪器、科学设备、服务和软件方案。热电测量与控制部分致力于将分析仪器应用于各种生产制造过程及安全和国防领域。欲获取更多信息, 请浏览我们的网站: www.thermo.com