

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250219003

引用格式: 石彬, 蒋力, 李咏富, 等. 基于  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶氧化活性快速比色检测鱼肉中组胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 118–125.

SHI B, JIANG L, LI YF, *et al.* Rapid colorimetric detection of histamine in fish based on the oxidase activity of  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  nanozyme [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 118–125. (in Chinese with English abstract).

# 基于 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 纳米酶氧化活性快速比色 检测鱼肉中组胺

石彬\*, 蒋力, 李咏富, 冉曜琦, 罗其琪

(贵州省农业科学院, 贵州省现代农业发展研究所, 贵阳 550009)

**摘要:** **目的** 建立基于  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶氧化活性快速比色法检测鱼肉样品中组胺的方法。**方法** 通过水热法制备了  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒, 并利用其氧化酶催化活性, 以  $\text{CH}_3\text{COONa}$  为缓冲体系, 以 3,3',5,5'-四甲基联苯胺作为氧化底物, 建立了一种鱼肉中组胺的快速比色检测方法。**结果** 该方法检测时间在 100 s 左右, 检出限为 0.58 mg/L, 具有较高的检测灵敏度; 在多种竞争性靶标检测中, 该方法表现出对组胺分子的良好特异性; 在实际样品加标实验中, 该方法加标回收率为 104.24%~108.30%, 相对标准偏差为 1.81%~3.44%, 具有良好的检测准确性。**结论** 该方法表现出了直观、快速、灵敏度高、特异性好的优点, 能适应日常复杂的检测环境, 为鱼肉中组胺的检测提供了一种新的思路。

**关键词:**  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ ; 纳米酶; 组胺; 鱼肉

## Rapid colorimetric detection of histamine in fish based on the oxidase activity of $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ nanozyme

SHI Bin\*, JIANG Li, LI Yong-Fu, RAN Yao-Qi, LUO Qi-Qi

(Guizhou Academy of Agricultural Science, Guizhou Institute of integrated Agricultural Development, Guiyang 550009, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a rapid colorimetric method for the detection of histamine in fish samples based on the oxidase activity of  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  nanozyme. **Methods**  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  nanoparticles were prepared by the hydrothermal method. Utilizing their oxidase catalytic activity, with  $\text{CH}_3\text{COONa}$  as the buffer system and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as the oxidation substrate, a rapid colorimetric detection method for histamine in fish was established. **Results** The detection time of this method was about 100 seconds. The limit of detection was 0.58 mg/L, indicating high detection sensitivity. In the detection of multiple competitive targets, this method showed good specificity for histamine molecules. In the spiked experiments on actual samples, the spiked recovery rate of this method ranged from 104.24% to 108.30%, and the relative standard deviations were from 1.81% to 3.44%, which had good detection accuracy. **Conclusion** This method demonstrates the advantages of being intuitive, rapid, highly sensitive and having good specificity. It can adapt to the complex daily detection environment

收稿日期: 2025-02-19

基金项目: 贵州省科技支撑项目(黔科合支撑[2021]一般 108)

第一作者/\*通信作者: 石彬(1990—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品辐照加工。E-mail: 406140627@qq.com

and provides a new idea for the detection of histamine in fish meat.

**KEY WORDS:**  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ ; nanozyme; histamine; fish

## 0 引言

组胺作为一种广泛存在于生物体内的生物胺, 在食品、医学以及生物学等领域都具有极其重要的意义<sup>[1-3]</sup>。在食品领域, 尤其是水产品中, 组胺是衡量食品质量和安全性的关键指标之一。鱼、虾等水产品在储存或加工过程中, 其体内的游离组氨酸会在微生物产生的脱羧酶作用下转化为组胺<sup>[4-7]</sup>。当组胺含量超过一定限度时, 会引发人体的过敏反应, 严重时甚至会危及生命。在医学领域, 组胺与许多疾病的发生和发展密切相关, 例如过敏性疾病、消化系统疾病等<sup>[8-10]</sup>。因此, 准确、快速地检测组胺含量对于保障食品安全、诊断疾病以及开展相关科学研究都具有至关重要的作用<sup>[11-13]</sup>。长期以来, 组胺的检测方法主要包括色谱法、免疫法等<sup>[14-16]</sup>。色谱法具有较高的准确性和灵敏度, 但需要昂贵的仪器设备、专业的操作人员以及复杂的样品前处理过程, 检测成本高、耗时长, 难以满足现场快速检测的需求<sup>[17-18]</sup>。免疫法虽然具有较高的特异性, 但也存在着试剂盒成本较高、易受干扰等问题<sup>[19]</sup>。这些传统检测方法的局限性促使科研人员不断探索更加简便、快速、经济的组胺检测新方法。鉴于组胺在食品和医学领域的重要性以及传统检测方法的局限性, 本研究旨在开发一种新的比色检测方法, 以实现日常环境中对鱼肉中组胺的快速检测, 实现对组胺含量的有效监管。

纳米酶指的是一系列拥有本征类酶性质的纳米材料<sup>[20-21]</sup>, 在生理条件下可有效催化底物的转化, 具有良好的酶活性<sup>[22-23]</sup>。与天然酶相比, 纳米酶具有成本低、耐恶劣环境、易于生产、可长期使用等优点<sup>[24-25]</sup>, 可以代替传统的蛋白酶类进行高效的催化反应。 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒属于典型的金属纳米酶, 具有体心立方晶体结构, 这使其具备优秀的催化活性<sup>[26-28]</sup>, 目前已被广泛的应用于光催化反应、食品检测以及生物医药等领域<sup>[29-31]</sup>。

本研究自主合成了  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶颗粒, 并对其性质进行了表征, 研究发现其具有良好的氧化酶催化活性。通过以  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶颗粒的氧化酶催化活性为基础, 选择 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB) 为显色底物, 利用组胺分子对反应催化活性的调节能力, 建立了一种组胺的快速比色检测方法, 为鱼肉中组胺的检测提供了一种新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜草鱼肉样品, 采购自当地超市。

$\text{AgNO}_3$ 、 $\text{Na}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{CH}_3\text{COONa}$ 、 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 、TMB(分析纯, 阿拉丁生物有限公司); 组胺、尸胺、腐胺、亚精胺、酪胺、色胺、苯乙胺、精胺(分析纯, 青岛 Pribolab 生物工程有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

FA-1004 电子天平(精度 0.1 mg, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司); JSM-IT700HR 扫描电子显微镜(日本电子公司); D8 AA25X 射线衍射仪(德国布鲁克公司); Varioskan LUX 多功能酶标仪[美国赛默飞世尔科技(中国)公司]; TG18G-台式高速离心机(中国盐城市凯特实验仪器有限公司); KH-200 型水热合成高压反应釜(中国郑州科达机械仪器设备有限公司); CT14RD 高速台式冷冻离心机(中国上海天美科学仪器有限公司); 85-2 型磁力搅拌器(中国上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 纳米材料制备与表征

配制 5 mL 的 0.6 mol/L 的  $\text{AgNO}_3$  水溶液, 于磁力搅拌的条件下加入到 25 mL 的 0.04 mol/L  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  溶液中, 反应生成黄色沉淀, 继续搅拌 10 min。然后将所得到的悬液倒入反应釜中, 150 °C 加热 24 h, 自然冷却至室温。先用蒸馏水与乙醇洗涤两次, 6000 r/min 离心 5 min, 得到固体, 最后 60 °C 烘箱中烘干得到最终产物, 产物于室温下干燥避光保存备用。通过扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、X-射线衍射(X-ray diffraction, XRD)等手段对制备的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒的形貌、结构进行表征, 确保其成功合成且具有良好的结晶性。

#### 1.3.2 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 氧化酶活性测定

采用酶标仪测定  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒的氧化酶活性。在离心管内加入 20  $\mu\text{L}$  10 mg/L 的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  悬液, 随后加入 0.1 mol/L pH 为 3.5 的  $\text{CH}_3\text{COONa}$  缓冲液 470  $\mu\text{L}$ , 充分混合均匀后加入 10  $\mu\text{mol/L}$  TMB 溶液 10  $\mu\text{L}$ , 充分混匀, 观察溶液颜色变化, 并在 300~800 nm 波长下测量吸光度的变化。通过对比加入不同浓度  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒的反应体系中吸光度的变化情况, 确定其氧化酶活性与浓度的关系。同时, 设置空白对照组(不含  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒), 以排除其他因素的干扰。

#### 1.3.3 组胺含量检测

在离心管内加入 20  $\mu\text{L}$  10 mg/L 的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  悬液, 随后加入 0.1 mol/L pH 为 3.5 的  $\text{CH}_3\text{COONa}$  缓冲液 450  $\mu\text{L}$ , 充分混合均匀后加入 10  $\mu\text{mol/L}$  TMB 溶液 10  $\mu\text{L}$ , 充分混匀后加入待检测组胺样品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 体系总体积为 500  $\mu\text{L}$ 。

使用酶标测定样品在波长 650 nm 处的吸光值  $A_{650}$ , 以纯净水代替待测样品作为空白对照, 计算待测样品在 650 nm 处吸光值与空白样品的差值  $\Delta A_{650}$ , 以  $\Delta A_{650}$  作为检测的响应值。

#### 1.3.4 特异性检测

按照 1.3.3 中的方法, 向体系内分别加入 20  $\mu\text{mol/L}$  浓度的 8 种常见生物胺类作为待检测样品, 以空白样品作为对照, 测定样品  $\Delta A_{650}$  的值, 并观察产物颜色变化。随后在各待测样品中加入 20  $\mu\text{mol/L}$  的组胺溶液, 按照上述方法, 再次测定样品  $\Delta A_{650}$  的值。

#### 1.3.5 实际样品检测加标回收实验

选择新鲜的草鱼肉样品作为实际样品进行加标回收实验。准确称取待测样品 5.0 g, 用捣碎机匀浆, 倒入 100 mL 烧杯中, 加入 30 mL 水超声浸取 30 min, 于 75  $^{\circ}\text{C}$  水浴加热 5 min, 取出放置冷却至室温。向上述溶液加入 2.0 g 活性炭脱色, 最后将溶液转移至 50 mL 容量瓶, 加水稀释至刻度线。静置 30 min, 取上清液 10 mL 于 15 mL 离心管离心 5 min (6000 r/min), 离心得到的上清液为测定的待测液。将不同浓度的组胺标准溶液分别添加入待测液中, 添加的最终浓度分别为 5、10、30、50  $\mu\text{mol/L}$ 。采用

1.3.3 的检测方法与采用陶鑫等<sup>[8]</sup>两种方法对样品进行加标回收实验以评估该方法的准确度, 每个样品重复 3 次, 计算均值与方差。

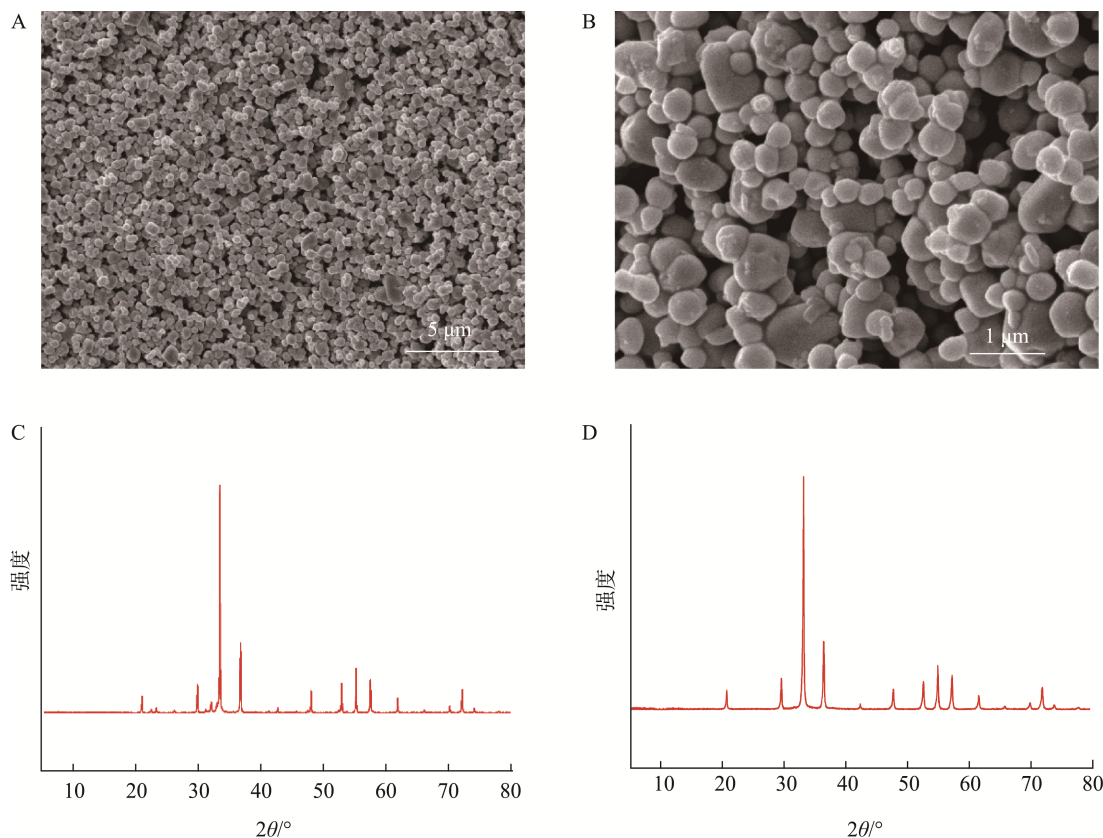
#### 1.4 数据处理

采用 SPASS 19.0 软件对数据进行分析处理, 采用 Origin 9.1 软件进行作图, 并对灵敏度曲线进行非线性拟合以及分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 纳米酶的特征

采用水热法制备了  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶, 采用电镜与 XRD 的方法对其形态进行了表征, 其结果如图 1 所示。图中 1A 和 1B 分别为放大倍数 5000 倍与 20000 倍的样品电镜图片, 可知制备的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料为不规则的多面体结构(平均粒径为 200 nm), 分子间结构清晰,  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  颗粒间具有均匀的结构分布。通过 XRD 分析确定了  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒的组分, 结果如图 1D 所示, 通过与  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  晶体的标准卡(JCPDS, No.06-0505)图 1C 对比, 二者组分一致, 所有的衍射峰均对应于  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  晶体, 表明  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料制备成功。



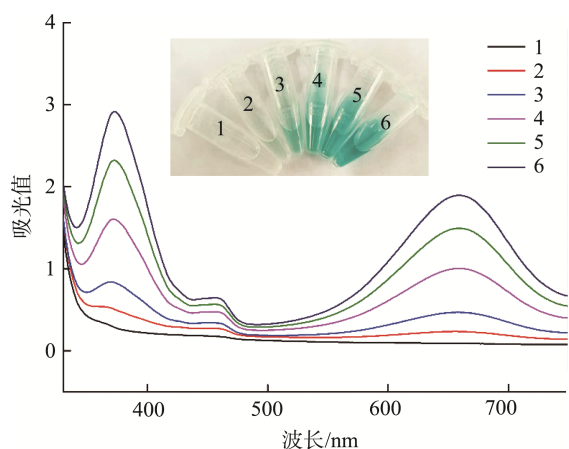
注: A. 制备  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料 5000 倍电镜图; B. 制备  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料 20000 倍电镜图; C.  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  晶体的标准卡 XRD 图谱; D. 制备  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料 XRD 图谱。

图 1 制备  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料表征图

Fig.1 Characterization diagram of the prepared  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  nanomaterial

## 2.2 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 氧化酶活性研究

对  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶的氧化催化性能进行了研究, 选择  $\text{CH}_3\text{COONa}$  缓冲液体系, 以 TMB 作为显色氧化底物, 研究了不同质量浓度的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  悬液的氧化酶催化活性, 结果如图 2 所示。由结果可知,  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶催化 TMB 产生了蓝色的氧化产物, 在 380 nm 和 650 nm 处有两处明显的吸收峰。研究发现  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  催化能力与自身浓度密切相关, 当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度为 0 mg/L 时, 产物颜色与吸光度无变化, 表明未发生催化反应; 当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度为 10 mg/L 时, 产物颜色较浅, 在 380 nm 与 650 nm 处吸光值分别为 0.46 与 0.23, 表明此时  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米酶催化活性较低。当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度增大时, 产物的颜色随之加深, 吸光值增大; 当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度达到 30 mg/L 时, 380 nm 与 650 nm 处吸光值达到峰值分别为 2.95 与 2.00。结果表明  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  的氧化催化活性与浓度相关, 可以通过调节  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度对体系催化活性进行精准控制。



注: 1: 0 mg/L; 2: 10 mg/L; 3: 15 mg/L; 4: 20 mg/L; 5: 25 mg/L; 6: 30 mg/L。

图 2 不同浓度  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  催化效果

Fig.2 Catalytic effects of  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  with different concentrations

## 2.3 检测方法构建

以  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  的氧化酶催化活性为基础, 以 TMB 作为变色氧化底物, 在  $\text{CH}_3\text{COONa}$  缓冲液体系中利用组胺对氧化反应的影响, 构建组胺比色检测体系, 选择产物 650 nm 处吸光值  $A_{650}$  作为响应值, 检测原理如图 3 所示。当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  体系中加入氧化底物 TMB 时, 二者会发生氧化催化反应, 生成蓝色的氧化产物  $\text{TMB}^+$ , 产物的颜色与催化反应强度相关。当体系中存在组胺时, 组胺能与  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  进行特异性结合, 抑制其催化活性, 从而导致产物颜色及吸光值变化, 且组胺的浓度与催化活性密切相关, 可以通过此机制建立检测标准曲线, 从而实现组胺的比色与定量检测。

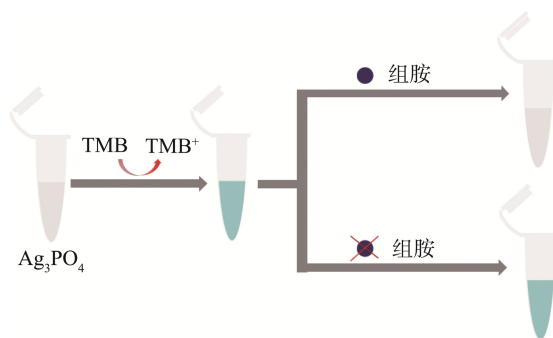
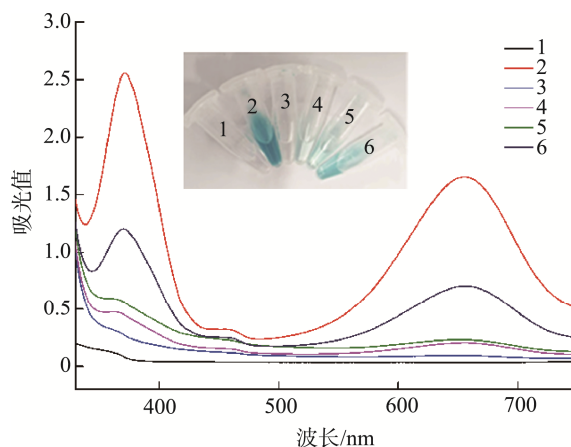


图 3  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  检测组胺原理示意图

Fig.3 Schematic diagram of the principle for detecting histamine by  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$

## 2.4 检测体系可行性分析

为了进一步验证  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  催化检测组胺的可行性, 研究了不同条件下  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  体系对组胺的检测效果, 结果如图 4 所示。由结果可知, 在第 1 组中, 当检测体系只存在水和 TMB 时, 产物  $A_{650}$  与颜色未发生变化, 在 300~800 nm 范围内无明显吸收峰, 表明体系未发生催化反应; 在第 2 组中, 当体系中  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  与 TMB 同时存在时, 反应生成蓝色产物,  $A_{650}$  的值为 1.75, 表明  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  成功催化底物 TMB 发生了氧化反应; 3~6 组中, 在  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  与 TMB 的催化体系里, 随组胺浓度由 100  $\mu\text{mol/L}$  减小为 5  $\mu\text{mol/L}$ , 产物颜色逐渐变深,  $A_{650}$  的值也由 0.09 升高到 0.7, 高浓度的组胺对催化反应表现出明显的抑制效果。该结果再次验证  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料对 TMB 的催化活性, 以及组胺对该催化反应的抑制效果, 验证了该检测方法的可行性。



注: 1: 纯净水+TMB; 2: 20 mg/L  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ +TMB; 3: 2+100  $\mu\text{mol/L}$  组胺; 4: 2+50  $\mu\text{mol/L}$  组胺; 5: 2+20  $\mu\text{mol/L}$  组胺; 6: 2+5  $\mu\text{mol/L}$  组胺。

图 4 不同条件  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  体系对组胺的检测结果

Fig.4 Detection results of histamine in the  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  system under different conditions

## 2.5 检测条件优化

### 2.5.1 $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ 质量浓度优化

$\text{Ag}_3\text{PO}_4$  作为氧化酶, 其浓度对体系反应活性有着重

要影响,直接影响检测体系的灵敏度。控制其他条件不变,对检测体系  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度进行了优化,结果如图 5A 所示,随着体系中  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度的增加,  $\Delta A_{650}$  的值呈先增大后减小的趋势。当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度小于 25 mg/L 时,  $\Delta A_{650}$  随  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度增加而增大,在 25 mg/L 时达到峰值 2.75。当  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  继续增大时,  $\Delta A_{650}$  的值减小,表明此时  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  过量,组胺对体系高浓度的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  下的氧化酶抑制效果有限。考虑过高的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  含量会降低组胺的检测灵敏度,选择 25 mg/L 为体系的  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  质量浓度。

### 2.5.2 体系 pH 优化

pH 是溶液酸碱程度的衡量标准,合适的 pH 也是氧化催化反应进行的重要条件。固定其他条件不变,对检测体系 pH 进行了优化,结果如图 5B 所示,当体系的 pH 小于 3.5 时,随着 pH 的上升,  $\Delta A_{650}$  的值增大,在 pH 为 3.5 时达到峰值,当 pH 大于 4.0 时,  $\Delta A_{650}$  的值快速减小, pH 过低和过高都不利于检测反应的进行。根据实验结果,体系的 pH 在 3.5~4.0 的范围时,  $\Delta A_{650}$  达到峰值 2.75 左右,因此选择为 pH 3.5 为检测体系的 pH。

### 2.5.3 TMB 浓度优化

TMB 作为  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  氧化酶催化体系的显色底物,能被  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  催化发生氧化反应生成  $\text{TMB}^+$ ,其浓度对组胺的检

测具有重要影响。固定其他条件不变,对检测体系 TMB 浓度进行了优化,结果如图 5C 所示,在该实验条件下,当 TMB 浓度小于 0.05  $\mu\text{mol/L}$  时,  $\Delta A_{650}$  的值随 TMB 浓度升高而快速增大,当 TMB 浓度高于 0.05  $\mu\text{mol/L}$ ,  $\Delta A_{650}$  减小。表明 TMB 浓度在 0.05  $\mu\text{mol/L}$  时,体系具有较好的检测灵敏度。当 TMB 浓度过低时,氧化反应不充分,而当 TMB 浓度过高时,造成底物过量,会影响该条件下对组胺的检测,因此选择 0.05  $\mu\text{mol/L}$  为体系 TMB 浓度。

### 2.5.4 检测时间优化

在催化检测体系中,产物的颜色会随着反应时间增加而变化,从而会影响组胺的检测,因此合适的检测时间对提升体系检测灵敏度有重要影响。保持其他条件不变,对检测时间进行优化,结果如图 5D 所示,  $\Delta A_{650}$  的值随检测时间的增加而增加。当检测时间为 100 s 时,  $\Delta A_{650}$  的值达到峰值,时间继续增加后  $\Delta A_{650}$  的响应值趋于稳定并有下降趋势。考虑快速检测的需求,选择 100 s 作为为体系的适宜的检测时间。

## 2.6 检测灵敏度分析

研究了体系在优化条件下检测不同浓度的组胺的检测信号值  $\Delta A_{650}$ ,结果如图 6 所示。由图 6 中结果可知,检

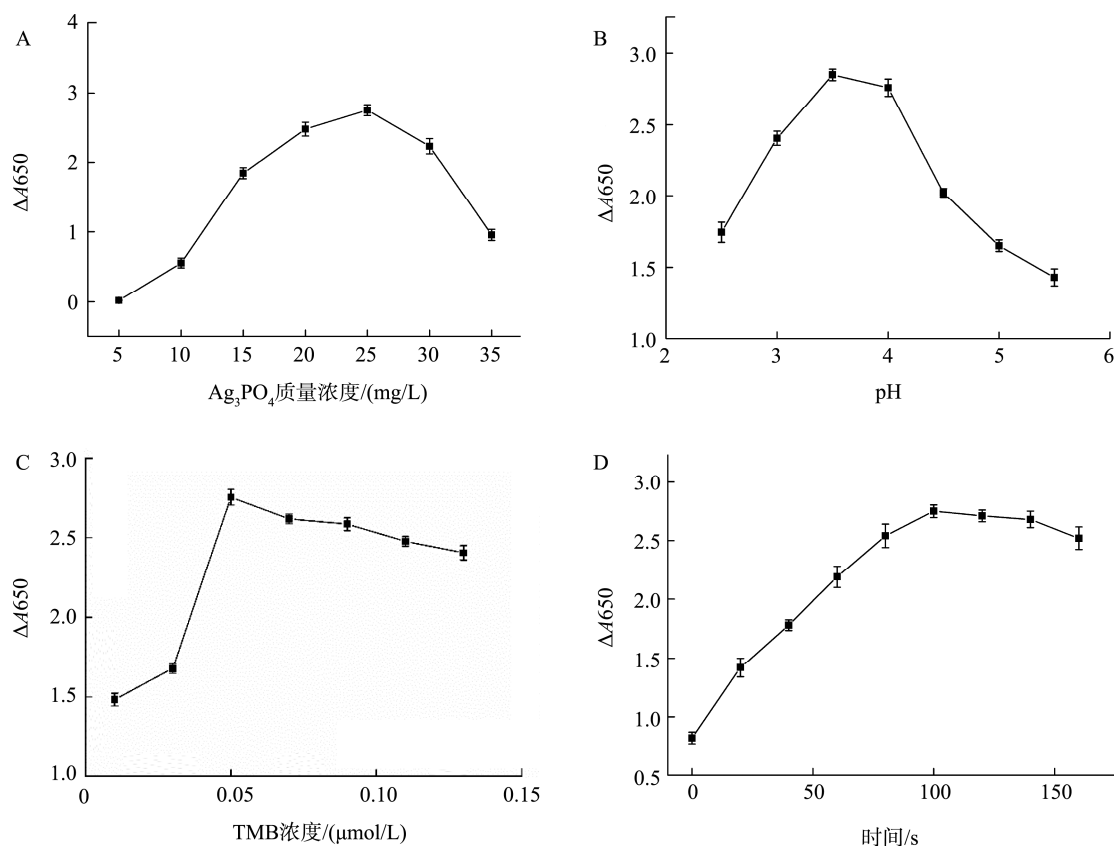


图 5 不同条件对检测体系的影响

Fig.5 Influences of different conditions on the detection system

测信号值  $\Delta A_{650}$  随着组胺浓度的升高而升高, 当组胺浓度大于 200  $\mu\text{mol/L}$  时, 信号值趋于稳定, 表明此刻待检测溶液中组胺的量接近饱和。对检测曲线进行拟合, 结果表明在 0~300  $\mu\text{mol/L}$  浓度区间, 组胺浓度与信号值符合高斯函数模型,  $r^2$  为 0.999, 具有良好的相关性。在浓度 5~35  $\mu\text{mol/L}$  时, 组胺浓度与信号值呈线性关系, 拟合曲线为:  $Y=0.00415X+0.0036$ 。由公式  $3\sigma/s$  计算出检出限为 5.29  $\mu\text{mol/L}$  即 0.58  $\text{mg/L}$  ( $S/N=3$ ), 远低于在我国 GB 2733—2015《食品安全国家标准鲜、冻动物性水产品》中明确规定了鱼类中组胺的允许限量 400  $\text{mg}/100\text{g}$ , 表明该方法具有较好的检测灵敏度, 适用于实际样品中的组胺检测。

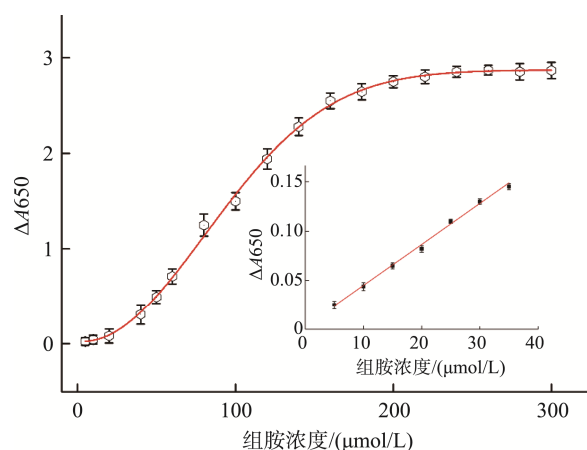


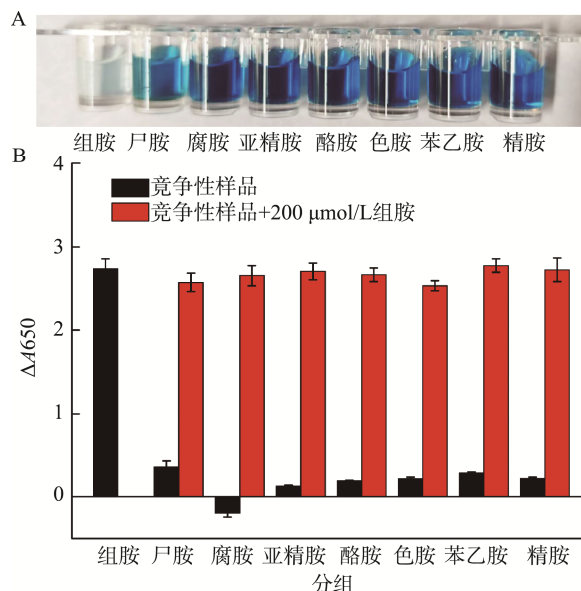
图 6 不同浓度组胺的检测的  $\Delta A_{650}$  变化

Fig.6  $\Delta A_{650}$  changes in the detection of histamine with different concentrations

### 2.7 检测特异性研究

检测特异性反应了检测体系的抗干扰能力, 是评价一种检测方法的重要指标之一。选择了 7 种常见的生物胺作为组胺的竞争性物质, 进行了特异性检测实验, 结果如图 7 所示。由结果可知, 组胺样品对检测体系氧化反应具有明显的抑制效果,  $\Delta A_{650}$  的值显著高于其他竞争物, 产物颜色较浅。而竞品组样品的  $\Delta A_{650}$  值较小, 产物呈深蓝色, 表明竞争物对氧化反应无明显的抑制效果。再次向所

有的竞争性样品中加入相同浓度的组胺时,  $\Delta A_{650}$  的值显著回升, 未发生由明显的干扰和抑制现象。实验结果表明该方法具有较好的检测特异性, 抗干扰能力较强, 能适用于日常的检测环境。



注: A. 添加 200  $\mu\text{mol/L}$  浓度不同的竞争性物质体系颜色变化。  
B. 添加 200  $\mu\text{mol/L}$  浓度不同的竞争性物质体系  $\Delta A_{650}$  变化。

图 7 不同竞争性物质对检测的影响  
Fig.7 Effects of different competitive substances on the detection

### 2.8 实际样品加标回收实验

选择市面上常见的鱼类作为实际样品, 进行实际样品检测。采用加标回收实验的方法进行检测, 结果如表 1 所示。如结果可知, 本方法检测方法对鱼肉样品的检测平均回收率在 104.24%~108.30%, 相对标准偏差在 1.81%~3.44%。高效液相色谱法对组胺的平均回收率为 93.34%~116.20%。本方法与高效液相色谱法相比, 平均回收率无明显差异。结果表明本方法具有良好的实用性, 有望在实际样品的检测中取代复杂的仪器设备, 实现组胺样品的快速比色检测。

表 1 鱼肉样品中组胺加标回收检测表

Table 1 Detection table of spiked recovery of histamine in fish samples

加标量 ( $\mu\text{mol/L}$ )	本方法			高效液相色谱法		
	测定值 ( $\mu\text{mol/L}$ )	平均回收率 /%	相对标准偏差 /%	测定值 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )	平均回收率 /%	相对标准偏差 /%
5.0	5.26	105.20	1.81	5.38	107.60	1.86
10.0	10.81	108.10	2.81	11.62	116.20	3.18
30.0	32.49	108.30	3.44	28.01	93.34	3.12
50.0	52.12	104.24	2.26	52.45	104.90	2.18

### 3 结论

通过水热法制备了  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒, 利用其氧化酶特性, 以 TMB 作为显色底物, 建立了一种组胺的快速比色检测方法。本方法检测时间较短, 具有较高的检测灵敏度, 在竞争性底物的检测中, 显示出了良好的检测特异性和抗干扰能力, 同时在实际样品的检测中表现出较好的检测精度与稳定性, 能满足日常复杂环境的检测需求。本方法具有快速、灵敏、直观、便捷的特点, 有望摆脱传统的检测方法对大型设备的依赖, 实现鱼肉中组胺的快速检测。该方法仍存在一些不足之处, 主要在于  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米颗粒在水中溶解度较差, 会导致其浓度不均匀, 影响检测准确性。后续可以考虑通过其他方法改善  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  的溶解特性, 同时可以通过优化  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  纳米材料的制备方法, 提高其粒径均匀性和催化性能, 进一步提高本方法的检测性能。

### 参考文献

- 黄润秋, 王琴, 骆建忠, 等. 八种酱腌菜生物胺含量检测及形成原因探讨[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(19): 164–170.  
HUANG RQ, WANG Q, LUO JZ, *et al.* Detection of biogenic amines in eight types of pickled vegetables and analysis of their formation reasons [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(19): 164–170.
- 王静, 吴志生, 赵小军, 等. 基于 HEMT 生物传感的抗组胺药物与 MIF 相互作用及验证研究[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(8): 1348–1355.  
WANG J, WU ZS, ZHAO XJ, *et al.* Interaction and verification study of antihistamine drugs and MIF based on HEMT biosensing [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2024, 44(8): 1348–1355.
- ZHOU Y, XIE W, KONG C, *et al.* Regulatory roles of histamine receptor in astrocytic glutamate clearance under conditions of increased glucose variability [J]. Biochemical Pharmacology, 2024, 230(P3): 116611.
- 汪开银, 熊丽莎, 陈斌, 等. 水产品中组胺快速检测的方法研究[J]. 食品安全导刊, 2024(3): 71–77.  
WANG KY, XIONG LS, CHEN B, *et al.* Research on the rapid detection method of histamine in aquatic products [J]. China Food Safety Magazine, 2024(3): 71–77.
- JIRAPATPONG S, NISACHON P, TANIN T, *et al.* Development of cloth-based microfluidic devices for rapid determination of histamine in fish and fishery products [J]. Mikrochimica Acta, 2023, 190(6): 213–213.
- LANCE DN, SOPHIA SD, GELIAN B, *et al.* Detection, Identification, and inactivation of histamine-forming bacteria in seafood: A mini-review [J]. Journal of Food Protection, 2023, 86(3): 100049.
- OKTARIANI AF, YAN R, SUDARYATMA PE, *et al.* Role of marine bacterial contaminants in histamine formation in seafood products: A review [J]. Microorganisms, 2022, 10(6): 1197.
- 陶鑫, 王章成, 马成章. HPLC 法测定食品中组胺的研究[J]. 安徽化工, 2024, 50(4): 119–124.  
TAO X, WANG ZC, MA CZ. Study on the determination of histamine in foods by HPLC [J]. Anhui Chemical Industry, 2024, 50(4): 119–124.
- 郭新颖, 戴志英, 陈峰, 等. 水产品及其罐头制品中组胺污染分析与健康风险[J]. 医学动物防制, 2024, 40(9): 926–930.  
GUO XY, DAI ZY, CHEN F, *et al.* Analysis of histamine contamination and health risks in aquatic products and their canned products [J]. Journal of Medical Pest Control, 2024, 40(9): 926–930.
- 郭怡彤, 林茂, 蔡国鹤, 等. 虾青素对组胺胁迫下美洲鳗幼鱼肝脏健康的影响[J]. 饲料研究, 2024, 47(2): 41–45.  
GUO YT, LIN M, CAI GH, *et al.* Effects of astaxanthin on the liver health of juvenile American eels (*Anguilla rostrata*) under histamine stress [J]. Feed Research, 2024, 47(2): 41–45.
- 尤昕, 郑伟丞, 黄姝玲, 等. 碳基荧光纳米探针的构建及对食品中组胺的高灵敏检测分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 112–119.  
YOU X, ZHENG WC, HUANG SL, *et al.* Construction of carbon-based fluorescent nanoprobe and its highly sensitive detection and analysis of histamine in foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(18): 112–119.
- 曾诚, 钱志娟, 石金伟, 等. 分子印迹-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>探针电化学传感器法测定食品中的组胺[J]. 中国口岸科学技术, 2024, 6(9): 50–58.  
ZENG C, QIAN ZJ, SHI JW, *et al.* Determination of histamine in foods by electrochemical sensor method using molecularly imprinted-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> probe [J]. China Port Science and Technology, 2024, 6(9): 50–58.
- 刘馨. 水产品中组胺可视化检测方法的建立及应用研究[D]. 厦门: 集美大学, 2024.  
LIU X. Establishment and application of visual detection methods for histamine in aquatic products [D]. Xiamen: Jimei University, 2024.
- CURRÒ S, SAVINI F, FASOLATO L, *et al.* Application of near-infrared spectroscopy as at line method for the evaluation of histamine in tuna fish (*Thunnus albacares*) [J]. Food Control, 2025, 167: 110778.
- HAMMAD SF, EL-MALLA SF, EL-KHATEEB BZ. Enhanced fluorimetric detection of diphenylpyraline HCl using micelle and cyclodextrin mediated approach: Spectrofluorimetric and micellar liquid chromatographic application for either single or combined formulation with caffeine and paracetamol [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 291. DOI: 10.1016/j.saa.2023.122317
- KOUNNOUN A, MAADOUDI EM, 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: 1–9.
- 肖宇, 唐莉, 庄莉, 等. 离子色谱法在食品检测中的应用进展[J]. 检验检疫学报, 2017, 27(6): 64–66.  
XIAO Y, TANG L, ZHUANG L, *et al.* Application progress of ion chromatography in food detection [J]. Journal of Inspection and Quarantine, 2017, 27(6): 64–66.
- 苗辰. 液相色谱法在食品检测中的应用进展[J]. 食品安全导刊, 2017(18): 105.  
MIAO C. Application progress of liquid chromatography in food detection [J]. China Food Safety Magazine, 2017(18): 105.
- 谢桂芳, 赖飞, 王艺蓉, 等. 胶体金免疫层析法在食品快速检测中的应

- 用研究进展[J]. 食品安全导刊, 2023(32): 181–185.
- XIE GF, LAI F, WANG YR, *et al.* Research progress on the application of colloidal gold immunochromatography in rapid food detection [J]. China Food Safety Magazine, 2023(32): 181–185.
- [20] CHEN DD, TAN GX, TIAN SH, *et al.* Advancements in nanozymes research for the management of chronic wounds [J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 500: 157299.
- [21] LI N, TANG J, WANG C, *et al.* Multienzyme-mimic Fe single-atom nanozymes regulate infection microenvironment for photothermal-enhanced catalytic antibacterial therapy [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2025, 245: 114363.
- [22] 赵馨竹. 纳米酶生物传感器在食品质量与安全检测中的应用研究[J]. 食品安全导刊, 2024(17): 84–86.
- ZHAO XZ. Application research of nanozyme biosensors in food quality and safety detection [J]. China Food Safety Magazine, 2024(17): 84–86.
- [23] 张朱泽惠, 李明, 关梓楠. 基于纳米酶生物传感器检测真菌毒素的研究进展[J]. 分析测试学报, 2024, 43(6): 945–954.
- ZHANG ZZH, LI M, GUAN HN. Research progress in the detection of mycotoxins based on nanozyme biosensors [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2024, 43(6): 945–954.
- [24] HU J, ZHENG Y, YIN C, *et al.* A novel and facile oxygen-activated time-temperature indicator with wide temperature monitoring range and good stability based on the laccase-like nanozyme [J]. Analytica Chimica Acta, 2024, 1330: 343272.
- [25] HAYAMA T, YOSHIDA H, TODOROKI K, *et al.* Determination of polar organophosphorus pesticides in water samples by hydrophilic in-teraction liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(14): 2203–2210.
- [26] 樊苗苗, 樊国栋, 田海莹. 高效磷酸银/碳球复合光催化剂的制备及可见光催化性能研究[J]. 现代化工, 2024, 44(7): 205–211.
- FAN MM, FAN GD, TIAN HY. Research on the preparation and visible light catalytic performance of high-efficient silver phosphate/carbon sphere composite photocatalysts [J]. Modern Chemical Industry, 2024, 44(7): 205–211.
- [27] 肖力光, 骆婉侠. 磷酸银光催化剂改性及应用研究进展[J]. 化工新型材料, 2024, 52(8): 241–246.
- XIAO LG, LUO WX. Research progress on the modification and application of silver phosphate photocatalysts [J]. New Chemical Materials, 2024, 52(8): 241–246.
- [28] 汤隽祎, 王宏杰, 赵子龙, 等. 还原氧化石墨烯/磷酸银光催化剂制备及其对卡马西平的降解[J]. 环境工程学报, 2019, 13(6): 1314–1321.
- TANG JY, WANG HJ, ZHAO ZL, *et al.* Preparation of reduced graphene oxide/silver phosphate photocatalyst and its degradation of carbamazepine [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(6): 1314–1321.
- [29] 汤春妮. 磷酸银光催化剂的制备及应用研究进展[J]. 化学工程师, 2018, 32(3): 41–45.
- TANG CN. Research progress on the preparation and application of silver phosphate photocatalyst [J]. Chemical Engineer, 2018, 32(3): 41–45.
- [30] 童设华, 聂金林, 林燕, 等. 铁氮共掺杂碳材料改性磷酸银复合光催化剂对四环素的催化降解性能与机制[J]. 环境科学学报, 2024, 44(7): 57–68.
- TONG SH, NIE JL, LIN Y, *et al.* Catalytic degradation performance and mechanism of tetracycline by iron-nitrogen co-doped carbon material modified silver phosphate composite photocatalyst [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2024, 44(7): 57–68.
- [31] 管若伶, 孙畅. 磷酸银-聚醚砜复合膜的制备及其吸附去除溴离子研究[J]. 化工新型材料, 2022, 50(10): 81–85
- GUAN RL, SUN C. Preparation of silver phosphate-polyethersulfone composite membrane and its adsorptive removal of bromide ions [J]. New Chemical Materials, 2022, 50(10): 81–85.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)