DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251209006
引用格式: 侯月彩, 黄小凤, 薛莹. 高效液相色谱-荧光及二极管阵列检测器检测发酵酒中生物胺的方法学比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(6): 351–358.
HOU YC, HUANG XF, XUE Y. Methodological comparison of determination of biogenic amines in fermented wines by high performance liquid chromatography with fluorescence and diode array detectors [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(6): 351–358. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-荧光及二极管阵列检测器检测发酵酒中生物胺的方法学比较

侯月彩[1,2], 黄小凤[2], 薛　莹[1*]
(1. 四川省疾病预防控制中心, 成都　610041; 2 中国科学院成都生物研究所, 成都　610213)

摘　要: 目的　比较高效液相色谱-荧光检测器与高效液相色谱-二极管阵列检测器检测发酵酒中 9 种生物胺的分析性能。**方法**　在相同的前处理与色谱条件下, 两种方法均用于测定发酵酒精饮料中的 9 种生物胺。从线性范围、灵敏度、精密度、回收率及抗干扰能力等方面进行综合评估。**结果**　两种方法在 1~50 μg/mL 范围内均呈现良好线性关系(r^2≥0.9986), 精密度(小于 3.00%)与准确度符合检测要求。荧光检测法对多数生物胺的灵敏度高于二极管阵列检测法, 其检出限低至 0.05 μg/mL, 但对组胺、章鱼胺和酪胺的灵敏度与二极管阵列检测法相当; 二极管阵列检测法对不同生物胺的检测响应更为均一, 而荧光检测法在复杂基质中表现出更优的抗干扰能力。**结论**　高效液相色谱-荧光检测法适用于痕量生物胺的高灵敏度检测, 而高效液相色谱-二极管阵列管检测法在对多种生物胺进行均衡筛查及常规分析中具有实用价值, 本研究为发酵酒中生物胺的检测方法选择提供了实验依据。

关键词: 生物胺; 高效液相色谱法; 荧光检测器; 二极管阵列检测器

Methodological comparison of determination of biogenic amines in fermented wines by high performance liquid chromatography with fluorescence and diode array detectors

HOU Yue-Cai[1,2], HUANG Xiao-Feng[2], XUE Ying[1*]
(1. *Sichuan Center for Disease Control and Prevention*, *Chengdu* 610041, *China*;
2. *Chengdu Institute of Biology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Chengdu* 610213, *China*)

ABSTRACT: Objective　To compare the analytical performance of high performance liquid chromatography with fluorescence detector and high performance liquid chromatography with diode array detector for determination of 9 kinds of biogenic amines in fermented wines. **Methods**　Under identical pretreatment and chromatographic conditions, both methods were applied to determine 9 kinds of biogenic amines in fermented wines. A comprehensive

收稿日期: 2025-12-09
第一作者: 侯月彩(1999—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为药物分析。E-mail: houyuecai23@mails.ucas.ac.cn
***通信作者:** 薛莹(1982—), 女, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品理化分析。E-mail: xuecher0221@sina.com

evaluation was conducted based on linear range, sensitivity, precision, recovery and resistance to interference. **Results** Both methods exhibited good linearity ($r^2 \geqslant 0.9986$) within the 1–50 μg/mL range, with precision (<3.00%) and accuracy meeting detection requirements. The fluorescence detection method exhibited higher sensitivity than the diode array detection method for most biogenic amines, with a detection limit as low as 0.05 μg/mL; however, its sensitivity for histamine, octopamine, and tyramine was comparable to that of the diode array detection method; The diode array detection method provided a more uniform response across different biogenic amines, whereas the fluorescence detection method demonstrates superior resistance to interference in complex matrices.. **Conclusion** The high performance liquid chromatography-fluorescence detector is suitable for high-sensitivity detection of trace biogenic amines, whereas high performance liquid chromatography-diode array detector holds practical value for balanced screening and routine analysis of multiple biogenic amines.

KEY WORDS: biogenic amines; high performance liquid chromatography; fluorescence detection; diode array detection

0 引 言

生物胺是一类由氨基酸脱羧形成的低分子量含氮有机化合物, 广泛存在于水产品、乳酪、发酵肉制品及酒类等食品中[1–2]。适量的生物胺对机体正常的生理功能有重要作用, 但过量摄入则可引起头痛、呕吐、高血压等中毒症状, 严重危害消费者健康[3–5]。发酵酒是常见的低度酒饮品, 一般是用谷物、果汁等为原料经发酵而得, 其在生产、加工及储藏过程中会产生大量生物胺[6–9]。因此, 建立快速、准确、灵敏的发酵酒生物胺检测方法对保障食品安全与质量至关重要[10]。

目前, 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)因其高效、准确、重复性好等优点, 已成为生物胺分析的主流技术[11–15]。然而, 由于大多数生物胺本身缺乏显著的紫外吸收或荧光基团, 直接检测灵敏度不足[16–18], 因此在分析前通常需进行衍生化处理, 使其转化为易于检测的衍生物[19–21]。在 HPLC 的多种检测器中, 荧光检测器(fluorescence detector, FLD)与紫外检测器应用最为广泛[22]。FLD 依赖于衍生后产物具有强荧光发射, 而紫外/二极管阵列检测器(diode array detector, DAD)则依赖于衍生后产物在特定波长下有较强吸收。FLD 以其高灵敏度和高选择性著称[23]; 紫外检测器, 特别是 DAD[24–25], 则因其通用性和操作简便而备受青睐[26–27]。因此, 在相同的样品前处理与色谱条件下系统比较 FLD 与 DAD 的性能, 有助于明确二者在方法灵敏度、选择性、抗干扰能力等方面的差异, 为实际检测工作中的方法选择提供依据。

目前, 虽有研究分别采用 HPLC-FLD 和 HPLC-DAD 两种检测器分析生物胺[28–30], 但在相同色谱条件与衍生化策略下, 鲜少有系统比较其性能差异的报道。因此, 本研究在相同的样品前处理与色谱分离条件下, 系统比较了 FLD 与 DAD 在检测发酵酒中 9 种生物胺的灵敏度、线性范围、精密度及选择性, 旨在明确其各自的优势、局限性与适用场景, 为实验室根据具体分析需求选择适宜的检测方案提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂和材料

Acclaim 120 C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Thermo Scientific Vanquish 高效液相色谱仪(配备 DAD 和 FLD)(美国赛默飞世尔科技公司); Waters XBridge C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 3.5 μm)(美国沃特世公司); Diamonsil Plus C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(北京迪科马科技有限公司); BSA224S 电子天平(精度 0.1 mg, 北京赛多利斯科学仪器有限公司); Allegra X-30 离心机(贝克曼库尔特公司); Auto EVA 80 平行浓缩仪(睿科仪器有限公司); NP-30S 涡旋仪(常州恩培仪器制造有限公司); HH-S4A 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司); PGSPE-047 弱阳离子交换树脂固相萃取柱(东阳市康源泰博生物科技有限公司); Milli-Q 高纯度水系统(德国默克公司)。

色胺盐酸盐、β-苯乙胺盐酸盐、腐胺盐酸盐、尸胺盐酸盐、组胺盐酸盐、酪胺盐酸盐、章鱼胺盐酸盐、亚精胺盐酸盐、精胺盐酸盐标准品(纯度>97%, 北京伟业计量集团有限公司); 丹磺酰氯(纯度 99%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 乙腈、甲醇、乙酸铵(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司); 冰乙酸、氨水(分析纯, 科隆成都市科隆化学品有限公司); 碳酸氢钠、碳酸钠、氢氧化钠、氯化钠、盐酸(分析纯, 重庆川东化工有限公司); 实验用水为去离子水, 使用 Milli-Q 高纯度水系统(德国默克公司)制备。

试样为市售的不同品牌发酵酒。

1.2 标准溶液配制

分别准确称取色胺盐酸盐、β-苯乙胺盐酸盐、腐胺盐酸盐、尸胺盐酸盐、组胺盐酸盐、酪胺盐酸盐、章鱼胺盐

酸盐、亚精胺盐酸盐、精胺盐酸盐标准品适量分别置于10 mL小烧杯中, 用50 mmol/L盐酸溶液溶解后转移至10 mL棕色容量瓶中, 定容至刻度线, 混匀, 配制成质量浓度为1.0 mg/mL的单标标准储备溶液。分别准确吸取2.5 mL各生物胺单标标准储备溶液置于同一个25 mL容量瓶中, 用50 mmol/L盐酸溶液定容至刻度, 混匀, 配制成100 μg/mL生物胺标准混合使用液, 置于4 ℃冰箱储存。

准确称取1,7二氨基庚烷、3,3'-二氨基二丙胺标准品25 mg, 分别置于10 mL小烧杯中, 用50 mmol/L盐酸溶液溶解后转移至25 mL棕色容量瓶中, 定容至刻度线, 混匀, 配制成质量浓度为1.0 mg/mL的内标标准储备溶液。吸取5 mL生物胺内标标准储备溶液, 置于10 mL棕色容量瓶中, 用50 mmol/L盐酸溶液定容至刻度线, 混匀, 配制成生物胺内标工作液(500 μg/mL), 置于4 ℃冰箱储存。

1.3　样品处理

1.3.1　样品预处理

准确量取1 mL发酵酒试样, 置于15 mL离心管中, 加入50 μL 500 μg/mL生物胺内标工作液、3 mL 50 mmol/L盐酸溶液, 涡旋混匀, 10000 r/min离心2 min, 上清液待净化。

1.3.2　固相萃取净化

依次用4 mL甲醇、4 mL水、4 mL 50 mmol/L盐酸溶液活化弱阳离子交换树脂固相萃取柱, 并保持湿润, 加入全部上述预处理样品, 过柱后, 依次用2 mL水、2 mL甲醇淋洗除杂, 抽干, 准确加入4 mL 0.2%氢氧化钠-甲醇溶液洗脱于15 mL离心管中, 洗脱液中加入0.25 mL 1 mol/L盐酸溶液, 混匀, 45 ℃水浴中氮吹至0.25 mL左右, 净化液待衍生。

1.3.3　衍生化

净化液中加入0.5 mL饱和碳酸氢钠溶液 , 补水至1 mL, 再加入1 mL的0.2 mol/L碳酸氢钠-碳酸钠缓冲溶液(pH 10.5), 1 mL 10 mg/mL丹磺酰氯-乙腈溶液, 混匀, 放置60 ℃恒温水浴中衍生15 min, 取出冷却至室温, 加入0.2 mL浓氨水, 混匀, 60 ℃恒温水浴中放置10 min, 取出冷却至室温, 加入0.5 mL乙腈、1.0 g氯化钠, 加盖涡旋2 min, 在5000 r/min下离心2 min, 取上清液用0.22 μm滤膜针头过滤器过滤后供液相色谱仪测定。

1.4　仪器条件

色谱柱为Waters XBridge C_{18} (250 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 5 μL; 流动相A: 900 mL含1%乙酸的0.01 mol/L乙酸铵溶液和100 mL乙腈的混合溶液; 流动相B: 100 mL含1%乙酸的0.01 mol/L乙酸铵溶液和900 mL乙腈的混合溶液, 梯度洗脱程序: 0.0~22.0 min, 60%~85% B; 22.0~25.0 min, 85%~100% B; 25.0~30.0 min, 100% B; 30.0~30.1 min, 100%~60% B, 30.1~35.0 min, 60% B。紫外检测波长: 254 nm; FLD: 激发波长340 nm, 发射波长515 nm。

1.5　方法学验证

1.5.1　线性关系

分别吸取10、25、50、100、250 μL生物胺标准混合使用液(100 μg/mL)及50 μL生物胺标准储备溶液(1.0 mg/mL), 加入50 μL生物胺内标工作液(500 μg/mL)、0.5 mL饱和碳酸氢钠溶液, 补水至1 mL, 得到质量浓度分别为1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 μg/mL生物胺标准系列溶液(内标质量浓度为: 25 μg/mL)。向标准系列溶液中分别加入1 mL pH 10.5碳酸氢钠-碳酸钠缓冲溶液、1 mL 10 mg/mL丹磺酰氯-乙腈溶液, 混匀, 放置在60 ℃恒温水浴中, 后续衍生测定同上述试样。分别用FLD和DAD进行色谱分析, 建立标准曲线。

1.5.2　灵敏度

使用信噪比法通过测定已知低浓度样品的信号, 并与空白样品的信号进行比较, 可以计算出能被可靠检测出的最低浓度, 以信噪比(*S*/*N*)为3:1和10:1时的相应浓度分别确定方法的检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)。

1.5.3　精密度

采用低、中、高质量浓度(2.5、5.0、25.0 μg/mL)标准溶液分别连续进样3次考察仪器精密度, 并分别用FLD和DAD进行检测。

1.5.4　回收率

选取待测发酵酒样品进行3个质量浓度(2.50、5.00、25.00 μg/mL) 加标回收实验, 每个质量浓度水平重复3次, 并分别用FLD和DAD进行检测, 计算回收率与相对标准偏差。

1.6　数据处理

所有色谱数据使用Thermo Scientific Dionex Chromeleon数据处理系统(版本7.3)进行分析。使用Origin 2024绘制色谱图。

2　结果与分析

2.1　色谱条件优化

本研究在两个检测器下考察了色谱柱类型、流动相组成、柱温及流速等条件。在色谱柱筛选方面, 比较了3种常见的C_{18}反相色谱柱: Waters X-Bridge C_{18}、Acclaim 120 C_{18}和Diamonsil Plus C_{18}。结果表明, Waters X-Bridge C_{18}色谱柱在目标分析物的分离效果、峰形和选择性方面表现最优(图1)。最终确定的色谱条件为: 采用Waters X-Bridge C_{18}色谱柱, 以含1%乙酸的0.01 mol/L乙酸铵溶液作为流动相, 柱温控制在35 ℃, 流速设定为0.8 mL/min。在此优化条件下, 目标分析物获得了良好的分离度、对称的峰形以及稳定的保留行为, 满足分析要求。色谱图见图1。

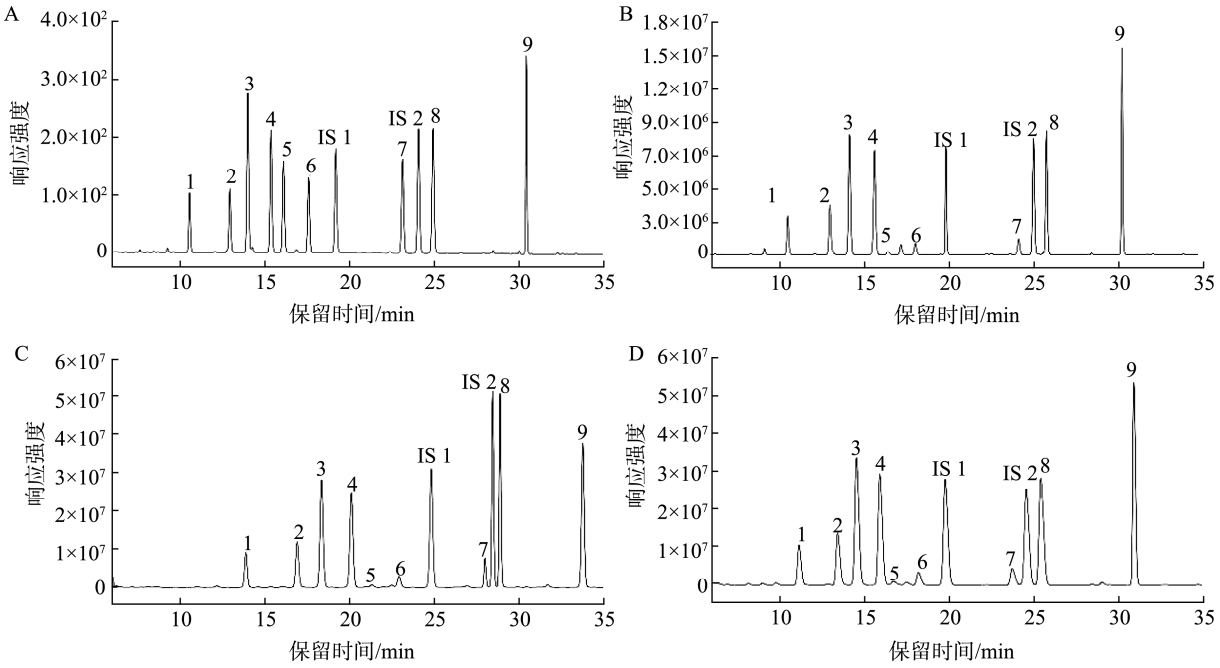
2.2　方法的线性范围和相关系数

将1.5.1项下的标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中, 进样量为5 μL。以标准系列工作液的质量浓度为

横坐标(X, μg/mL), 以目标化合物的峰面积与内标的峰面积的比值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 其中精胺以 3,3'-二氨基二丙胺为内标定量, 其他 8 种生物胺以 1,7 二氨基庚烷为内标定量。得到生物胺的线性范围、相关系数, 结果见表 1。结果表明, HPLC-FLD 法和 HPLC-DAD 法在 1~50 μg/mL 的线性范围内, 线性关系均良好(r^2≥0.9992、0.9986), 均能达到常规检测要求。

2.3 灵敏度比较

两种检测器对 9 种生物胺的 LODs 与 LOQs 如表 2 所示。FLD 在检测色胺、β-苯乙胺、腐胺、尸胺、亚精胺和精胺时展现出更高的灵敏度, 其 LODs 均达到 0.05 μg/mL。FLD 对组胺、章鱼胺和酪胺的 LODs 分别为 0.40、0.30 和 0.30 μg/mL, 与 DAD 的 LODs (0.40、0.40、0.40 μg/mL)相近, 说明对于这 3 种生物胺, FLD 并未表现出明显的灵敏度优势。这可能与其丹磺酰衍生物的荧光量子产率较低有关, 也反映出衍生化反应对不同胺类的荧光增强效果存在差异。总体而言, DAD 对不同生物胺的检测响应更为均一, 其 LODs 在 0.10~0.40 μg/mL 范围内, 而 FLD 的 LODs 在 0.05~0.40 μg/mL 范围内。



注: A. HPLC-DAD 色谱图-Waters X-Bridge C_{18}; B. HPLC-FLD 法色谱图-Waters X-Bridge C_{18}; C. HPLC-FLD 色谱图-Acclaim120 C_{18}; D. HPLC-FLD 法色谱图-Diamonsil Plus C_{18}; 标准溶液的质量浓度均为 25 μg/mL; 1 为色胺; 2 为苯乙胺; 3 为腐胺; 4 为尸胺; 5 为组胺; 6 为章鱼胺; 7 为酪胺; 8 为亚精胺; 9 为精胺; IS1-3,3'为二氨基二丙胺; IS2 为 1,7 二氨基庚烷)。

图 1 生物胺色谱图

Fig.1 Chromatograms of biogenic amines

表 1 HPLC-FLD 和 HPLC-DAD 的线性方程、相关系数(r^2)和线性范围

Table 1 Linear equations, correlation coefficients (r^2) and linear ranges of HPLC-FLD and HPLC-DAD

分析物	HPLC-FLD			HPLC-DAD		
	校准曲线方程	相关系数(r^2)	线性范围/(μg/mL)	校准曲线方程	相关系数(r^2)	线性范围/(μg/mL)
色胺	Y=1.214X+0.169	0.9996	1~50	Y=1.7618X+0.5094	0.9986	1~50
β-苯乙胺	Y=1.7311X+0.4527	0.9998	1~50	Y=2.1644X+0.7265	0.9990	1~50
腐胺	Y=4.185X+0.9414	0.9992	1~50	Y=5.4738X+0.6391	0.9994	1~50
尸胺	Y=3.9214X-0.1002	0.9998	1~50	Y=4.4067X+0.3651	0.9998	1~50
组胺	Y=0.1507X+0.0177	0.9994	1~50	Y=3.4945X–0.218	0.9998	1~50
章鱼胺	Y=0.4761X–0.0878	0.9998	1~50	Y=2.8473X–0.3268	0.9998	1~50
酪胺	Y=0.6451X–0.0576	0.9998	1~50	Y=3.7535X–0.0124	0.9998	1~50
亚精胺	Y=4.1041X–0.2929	0.9996	1~50	Y=4.92X+0.2632	0.9998	1~50
精胺	Y=5.4135X–0.2973	0.9998	1~50	Y=3.5372X–0.0369	0.9998	1~50

表 2　两种方法检测性能参数(μg/mL)
Table 2　Performance parameters detected by the 2 kinds of methods (μg/mL)

分析物	HPLC-FLD		HPLC-DAD	
	LODs	LOQs	LODs	LOQs
色胺	0.05	0.10	0.40	1.00
β-苯乙胺	0.05	0.10	0.40	1.00
腐胺	0.05	0.10	0.10	0.20
尸胺	0.05	0.10	0.20	0.50
组胺	0.40	1.00	0.40	1.00
章鱼胺	0.30	1.00	0.40	1.00
酪胺	0.30	1.00	0.40	1.00
亚精胺	0.05	0.10	0.20	0.50
精胺	0.05	0.10	0.10	0.20

2.4　精密度比较

精密度实验结果如表 3 显示, FLD 方法的相对标准偏差普遍小于等于 1.02%(除 25.00 μg/mL), 组胺相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.70%, DAD 方法的 RSDs 在 0.27%至 2.24%之间。两种方法的 RSDs 均小于 3.00%, 表明其精密度良好, 符合分析要求。

2.5　方法回收率

通过加标回收实验, FLD 的平均回收率为 85.38%~117.61%, DAD 的平均回收率为 85.01%~117.33%, 见表 4。两种方法在不同加标水平下的回收率结果均符合常规分析要求, RSDs 值亦在可接受范围内。

2.6　实际样品的测定

分别采用 HPLC-FLD 法与 HPLC-DAD 法检测 S1~S55 批发酵酒样品中生物胺, 样品经过衍生化程序后进样, 测定 3 次, 计算平均值。从样品测定结果发现, 大部分品种的发酵酒中存在一定含量的腐胺、组胺和酪胺; 部分种类的发酵酒中存在的苯乙胺和尸胺; 少量种类的发酵酒中存在亚精胺和色胺, 而抽检的几种样品中的精胺含量处于检测限以下, 见表 5。值得注意的是, 在部分样品中, DAD 检测器报告的章鱼胺含量明显高于 FLD 结果(如 S2、S4、S5)。为进一步探究原因, 本研究利用 DAD 的全波长扫描功能对

表 3　方法的精密度测定结果(n=3)
Table 3　Results of the method precision determination (n=3)

分析物	加标质量浓度/(μg/mL)	HPLC-FLD		HPLC-DAD	
		峰面积	RSDs/%	峰面积	RSDs/%
色胺	2.50	$(4.160\pm0.019)\times10^5$	0.45	3.097±0.018	0.59
	5.00	$(8.428\pm0.053)\times10^5$	0.62	5.786±0.100	1.73
	25.00	$(5.681\pm0.038)\times10^6$	0.67	39.66±0.12	0.29
β-苯乙胺	2.50	$(6.536\pm0.008)\times10^5$	0.13	3.966±0.023	0.58
	5.00	$(1.281\pm0.003)\times10^6$	0.21	8.018±0.103	1.29
	25.00	$(8.244\pm0.051)\times10^6$	0.62	48.03±0.22	0.45
腐胺	2.50	$(1.448\pm0.007)\times10^6$	0.48	9.236±0.054	0.58
	5.00	$(2.944\pm0.010)\times10^6$	0.35	17.31±0.28	1.64
	25.00	$(1.606\pm0.007)\times10^7$	0.46	121.6±0.3	0.28
尸胺	2.50	$(1.304\pm0.006)\times10^6$	0.43	7.452±0.046	0.62
	5.00	$(2.679\pm0.007)\times10^6$	0.25	14.30±0.32	2.24
	25.00	$(1.559\pm0.008)\times10^7$	0.50	95.87±0.26	0.27
组胺	2.50	$(5.197\pm0.004)\times10^4$	0.81	5.658±0.045	0.79
	5.00	$(1.030\pm0.004)\times10^5$	0.40	9.753±0.173	1.78
	25.00	$(7.314\pm0.197)\times10^5$	2.70	75.17±0.26	0.35
章鱼胺	2.50	$(1.568\pm0.007)\times10^5$	0.44	4.591±0.027	0.59
	5.00	$(3.189\pm0.007)\times10^5$	0.22	8.677±0.158	1.82
	25.00	$(2.207\pm0.014)\times10^6$	0.66	61.14±0.17	0.27
酪胺	2.50	$(2.167\pm0.012)\times10^5$	0.57	6.103±0.037	0.60
	5.00	$(4.581\pm0.020)\times10^5$	0.44	11.97±0.23	1.90
	25.00	$(3.050\pm0.022)\times10^6$	0.73	81.31±0.25	0.31
亚精胺	2.50	$(1.433\pm0.007)\times10^6$	0.52	8.341±0.049	0.59
	5.00	$(2.949\pm0.030)\times10^6$	1.02	15.55±0.35	2.23
	25.00	$(1.436\pm0.013)\times10^7$	0.91	105.5±0.3	0.33
精胺	2.50	$(1.648\pm0.016)\times10^6$	0.99	7.501±0.041	0.55
	5.00	$(3.380\pm0.003)\times10^6$	0.08	14.27±0.29	2.04
	25.00	$(1.292\pm0.004)\times10^7$	0.33	97.36±0.28	0.28

表 4 2 种方法测定生物胺的回收率(n=3)

Table 4 Recoveries of the 2 kinds of methods for biogenic amines detection (n=3)

分析物	加标量/(μg/mL)	HPLC-FLD		HPLC-DAD	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
色胺	2.50	104.09±0.74	0.71	98.07±3.24	3.30
	5.00	97.81±3.29	3.36	99.23±2.00	2.02
	25.00	104.59±3.92	3.75	93.58±0.81	0.87
β-苯乙胺	2.50	105.02±6.10	5.81	104.66±2.50	2.39
	5.00	115.71±0.86	0.74	117.33±2.29	1.95
	25.00	112.09±0.94	0.84	110.34±5.93	5.38
腐胺	2.50	105.00±1.74	1.66	96.60±6.05	6.26
	5.00	97.21±4.78	4.92	99.43±3.14	3.16
	25.00	96.18±5.48	5.70	101.17±6.01	5.94
尸胺	2.50	99.55±4.61	4.63	102.51±5.08	4.96
	5.00	96.39±1.20	1.25	98.59±3.12	3.16
	25.00	100.00±5.23	5.23	105.63±3.73	3.53
组胺	2.50	98.05±2.69	2.74	95.39±3.01	3.16
	5.00	110.40±0.62	0.56	110.43±0.03	0.03
	25.00	117.61±6.15	5.23	113.10±6.69	5.92
章鱼胺	2.50	93.81±2.02	2.15	92.41±1.97	2.13
	5.00	95.64±3.36	3.51	98.13±3.52	3.59
	25.00	90.52±2.62	2.89	101.70±0.46	0.45
酪胺	2.50	107.22±0.43	0.40	107.46±1.62	1.51
	5.00	105.89±2.49	2.35	103.55±3.30	3.19
	25.00	106.87±6.08	5.69	114.96±5.31	4.62
亚精胺	2.50	105.66±3.01	2.85	108.93±5.22	4.79
	5.00	99.33±2.96	2.98	99.54±0.29	0.29
	25.00	88.35±3.04	3.44	89.51±1.28	1.43
精胺	2.50	102.91±3.20	3.11	103.59±6.44	6.22
	5.00	103.31±5.87	5.68	106.15±4.01	3.78
	25.00	85.38±0.14	0.16	85.01±2.65	3.12

表 5 HPLC-FLD 法与 HPLC-DAD 法测定生物胺含量结果对比(mg/kg)

Table 5 Comparison of biogenic amine content results between HPLC-FLD and HPLC-DAD methods (mg/kg)

样本	检测器	色胺	β-苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	章鱼胺	酪胺	亚精胺	精胺
S1	FLD	-	-	7.34	1.43	4.28	1.12	17.42	2.62	-
	DAD	-	-	6.94	1.53	3.65	1.72	16.49	2.13	-
S2	FLD	-	1.71	18.68	6.79	4.51	-	43.21	-	-
	DAD	-	1.32	18.91	6.80	2.69	1.42	42.34	-	-
S3	FLD	-	1.88	12.93	4.64	3.58	-	26.15	-	-
	DAD	-	1.57	11.89	4.30	1.89	-	25.02	-	-
S4	FLD	13.02	-	1.18	-	4.40	-	47.75	-	-
	DAD	12.58	-	1.16	-	3.35	1.38	47.20	-	-
S5	FLD	-	1.44	4.70	-	3.04	-	2.10	-	-
	DAD	-	1.32	4.32	-	2.96	6.61	3.22	-	-

注: -表示低于 LOD。

疑似章鱼胺色谱峰进行光谱分析, 发现其紫外吸收光谱与章鱼胺标准品在 217 nm 与 254 nm 附近高度相似(图 2), 但在 FLD 通道中无对应荧光响应, 进一步验证了该峰为假阳性干扰(图 2)。相比之下, FLD 在复杂基质中表现出更优的抗干扰能力。这说明在复杂食品基质中, 仅依靠单一波长检测可能带来假阳性风险。发酵酒基质复杂, 含有多种氨基酸、多酚、有机酸等物质, 这些物质或其衍生物可能在衍生化后产生在 254 nm 附近有吸收的副产物, 从而

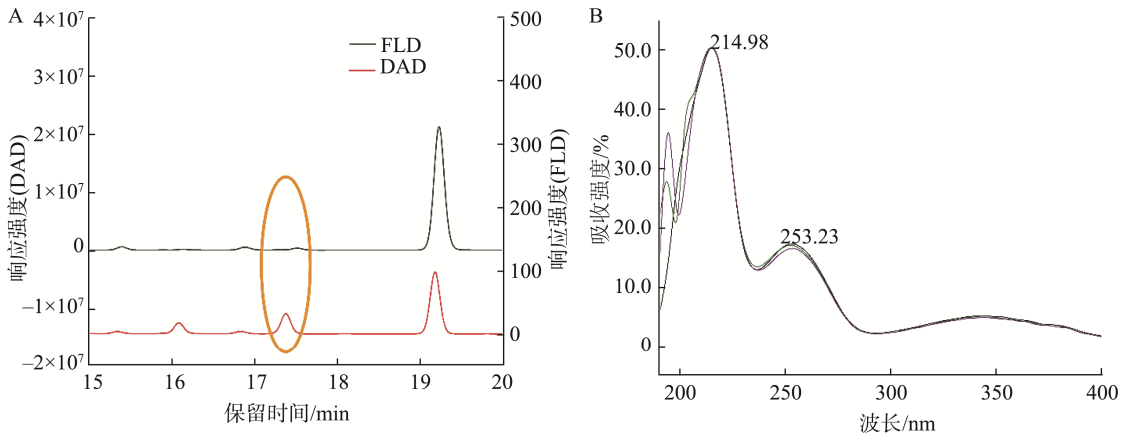


图 2　S1 样品中章鱼胺检测区域的 FLD 与 DAD 色谱对比(A)及 DAD 光谱验证图(B)

Fig.2　FLD and DAD chromatographic comparison (A) and DAD spectral verification diagram (B) of the octopamine detection region in S1 sample verification

干扰 DAD 检测。试样中生物胺含量按式(1)计算:

$$X=\frac{c\times V\times f}{m} \quad (1)$$

式中: X 为试样中被测组分的含量, mg/kg; c 为试样溶液中被测组分的质量浓度, mg/L; V 为试样溶液的体积, mL; f 为稀释倍数; m 为试样的质量, g。

3　结论与讨论

本研究在相同的前处理与色谱条件下, 系统比较了 HPLC-FLD 与 HPLC-DAD 在发酵酒生物胺分析中的性能。结果表明, 两种方法在 1~50 μg/mL 范围内均呈现良好的线性关系($r^2\geq0.9986$), 精密度(小于 3.00%)与准确度均满足常规分析需求。然而, 在关键性能指标上, 二者存在显著差异, 这主要源于其检测原理的不同。

在灵敏度方面, FLD 展现出对特定生物胺的极高检测能力。对于色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、亚精胺和精胺这 6 种生物胺, FLD 的检出限低至 0.05 μg/mL, 明显优于 DAD。值得注意的是, FLD 对组胺、章鱼胺和酪胺的灵敏度相对较低, 与 DAD 相当, 这可能与这些胺类的丹磺酰衍生物固有的荧光量子效率较低有关。与此形成对比, DAD 对不同生物胺的检测灵敏度则表现均一, 未出现针对特定胺类的明显波动, 这使其在同时筛查多种生物胺时具备一定的稳定性优势。

在方法选择性方面, FLD 表现更优。FLD 获得的色谱图基线平稳, 杂质峰干扰少; 而 DAD 色谱图背景相对复杂, 存在较多未知杂质峰。这主要是因为食品基质中的绝大多数成分在衍生后并不产生荧光, FLD 能有效“过滤”掉非目标干扰物。而 DAD 作为一种广谱检测器, 易受基质中共提取物的紫外吸收干扰。本研究中也观察到, DAD 在检测章鱼胺时出现假阳性信号, 经光谱比对发现可能来源于结构相似的衍生化产物, 这也显示在复杂样品分析中结合保留时间与光谱信息进行综合判断的重要性。

因此, 在实际检测工作中, 建议根据样品基质复杂度、目标生物胺种类及检测灵敏度要求, 合理选择 HPLC-FLD 或 HPLC-DAD 方法, 以实现高效、准确的分析目标。

参考文献

[1] 栗梦婷. 食品中生物胺的检测方法优化与应用分析[J]. 产品可靠性报告, 2025(8): 152–153.
LI MT. Optimization and application analysis of detection methods for biogenic amines in food [J]. Reliability Reports, 2025(8): 152–153.

[2] VASQUES MSP, NUNES A, MONTEIRO GC, *et al*. Biogenic amine profile in unfermented and fermented orange industrial waste [J]. Food Research International, 2025, 213: 116595.

[3] ARULKUMAR A, PARAMITHIOTIS S, PARAMASIVAM S. Biogenic amines in fresh fish and fishery products and emerging control [J]. Aquaculture and Fisheries, 2023, 8(4): 431–450.

[4] GAO XL, LI C, HE RH, *et al*. Research advances on biogenic amines in traditional fermented foods: Emphasis on formation mechanism, detection and control methods [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134911.

[5] TURNA NS, CHUNG R, MCINTYRE L. A review of biogenic amines in fermented foods: Occurrence and health effects [J]. Heliyon, 2024, 10(2): e24501.

[6] 杨姗姗, 张凤艳, 蒋万枫, 等. 发酵酒中生物胺的研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(3): 18–23.
YANG SS, ZHANG FY, JIANG WF, *et al*. Research progress of biogenic amines in fermented alcoholic drink [J]. China Brewing, 2022, 41(3): 18–23.

[7] WANG YP, YAN B, XU HQ, *et al*. Biogenic amines in fermented foods: A comprehensive review from formation pathways, risk analysis, detection technologies to control measures [J]. Food Research International, 2026, 223(P2): 117832.

[8] JIN JC, XIE GF, TONG LN, *et al*. Changes in biogenic amines during

fermentation of Chinese rice wine (Huangjiu) and the underlying mechanisms [J]. International Journal of Food Properties, 2024, 27(1): 1095–1103.

[9] LI X, YAO J, LEI D, *et al*. The dynamic of biogenic amines and higher alcohols of Chinese rice wine during fermentation [J]. Food Science and Biotechnology, 2024, 34(6): 1–10.

[10] RUIZ-CAPILLAS C, HERRERO AM. Impact of biogenic amines on food quality and safety [J]. Foods, 2019, 8(2): 62.

[11] HAO JW, FAN XX, CHEN ND, *et al*. A novel method for the simultaneous determination of flavonoids in *Pteridium aquilinum* via SPE combined with UPLC-DAD via QAMS [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 137: 106881.

[12] LI LL, ZHANG YW, LIU RT, *et al*. Analysis of sulfides in garlic of different origins based on UPLC-QTOF-MS and HPLC combined with chemometrics [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 137: 106974.

[13] 杨文婉, 张婷, 李虹霖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定预制菜中 5 种生物胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 254–260.
YANG WW, ZHANG T, LI HL, *et al*. Determination of 5 kinds of biogenic amines in prefabricated food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 254–260.

[14] 张殿伟, 张玉华, 马元辰, 等. 发酵食品中生物胺检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(20): 140–151.
ZHANG DW, ZHANG YH, MA YC, *et al*. Research progress in detection technology of biogenic amines in fermented foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(20): 140–151.

[15] ALMANSOUR A, AKKAYA SN, AKBULUT S, *et al*. Biogenic amine degradation by lactic acid bacteria isolated from home-made white cheese: Molecular and HPLC-based assessment [J]. Probiotics And Antimicrobial Proteins, 2025. https://doi.org/10.1007/s12602-025-10819-5

[16] REBANE R, LEITO I. Derivatization for success: A tutorial review of liquid chromatography mass spectrometry method optimization for determining amino compounds [J]. Analytica Chimica Acta, 2025, 1370: 344354.

[17] VYVIURSKA O, FROMEL R, VIDAL PELLEGRINO R, *et al*. Utilisation of stir bar sorptive extraction for the analysis of biogenic amines in wines [J]. Food Chemistry, 2025, 488: 144775.

[18] YANG H, CAO H, CAO W. Precise quantification of 8 biogenic amine monomers in soy sauce with optimized pre-treatment, HPLC-UV and isotope-labeled internal standard-LC-MS/MS [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 139: 107112.

[19] 张欣悦, 陶冶, 徐新房, 等. 样品衍生化技术在中药分析中的应用现状[J]. 药物分析杂志, 2025, 45(4): 554–563.
ZHANG XY, TAO Y, XU XF, *et al*. Application of sample derivatization techniques in the analysis of traditional Chinese medicine [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2025, 45(4): 554–563.

[20] 周朗君, 陈钦, 李秀英. 丹磺酰氯柱前衍生-反相高效液相色谱法同时测定水产品中 9 种生物胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 24–31.
ZHOU LJ, CHEN Q, LI XY. Simultaneous determination of 9 kinds of biogenic amines in aquatic products by dansyl chloride precolumn derivatization-reverse phase high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 24–31.

[21] BAHARI MFH, SAAID M. Exploring the potential application of hydrophobic deep eutectic solvent based dispersive liquid-liquid microextraction for the in situ extraction and derivatisation of biogenic amines in selected foods [J]. Microchemical Journal, 2025, 218: 115518.

[22] 陈小英, 王嫦鹤, 刘雪峰, 等. 柱前衍生化 RP-HPLC 法同时测定多肽类药物中 7 个生物胺的含量[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(4): 643–652.
CHEN XY, WANG CH, LIU XF, *et al*. Simultaneous determination of seven kinds of biogenic amines in polypeptide drugs by RP-HPLC with pre-column derivatization [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2022, 42(4): 643–652.

[23] 赵莹, 胡佳薇, 赵静珺, 等. 高效液相色谱-多波长荧光检测法同时测定血清中维生素 A 和维生素 E 的含量[J]. 卫生研究, 2020, 49(4): 585–590.
ZHAO Y, HU JW, ZHAO JJ, *et al*. Determination of vitamin A and vitamin E in human serum by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Journal of Hygiene Research, 2020, 49(4): 585–590.

[24] BEHESHTIAN M, MOVASSAGHGHAZANI M, MOGADDAM MRA. Monitoring biogenic amines in cream and cheese samples using liquid nitrogen-induced homogeneous liquid-liquid extraction combined with magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC-DAD [J]. Analytical Methods, 2025, 17(17): 3446–3452.

[25] YUN A, YING H, LI LJ, *et al*. Determination of spermidine and other 10 biogenic amines in *Radix astragali* (Huang qi) by HPLC-DAD with precolumn derivatization [J]. Current Pharmaceutical Analysis, 2024, 20(8): 755–762.

[26] CAI Q, LI XQ, RAN ZQ, *et al*. Simultaneous determination of 13 biogenic amines and their metabolites in liquid fermented food by HPLC-QTRAP-MS without derivatization [J]. Microchemical Journal, 2024, 206: 111659.

[27] 牛天娇, 郭永杰, 孙二娜, 等. 高效液相色谱法测定黄酒发酵醪液中生物胺含量[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(5): 184–188.
NIU TJ, GUO YJ, SUN ERN, *et al*. Determination of biogenic amine in fermented mash of yellow rice wine by HPLC [J]. Food Research and Development, 2020, 41(5): 184–188.

[28] 张瑀, 王玥. 高效液相色谱法同时测定咸鱼中 8 种生物胺[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(4): 107–111.
ZHANG Y, WANG Y. Determination of 8 biogenic amines in salted fish by high performance liquid chromatography [J]. China Food Additives, 2021, 32(4): 107–111.

[29] 董秀芳. 食品中生物胺的高效液相色谱检测方法优化研究[J]. 中外食品工业, 2025(8): 64–66.
DONG XF. Optimization of high-performance liquid chromatography method for detecting biogenic amines in food [J]. Global Food Industry, 2025(8): 64–66.

[30] 董艺伟, 李保国, 郭全友, 等. 高效液相色谱法在食品生物胺检测方面的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(7): 261–268.
DONG YW, LI BG, GUO QY, *et al*. Review of high-performance liquid chromatography for biogenic amines determination in food [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(7): 261–268.

(责任编辑: 冯东慧 韩晓红)