

生物胺快速精准检测方法的研究进展

陈海新¹, 孔祥媛², 孔令灿^{1,3*}

(1. 南京医科大学 公共卫生学院, 南京 211166; 2. 山东省曲阜市中医院, 曲阜 273100;

3. 南京医科大学附属无锡市疾病预防控制中心, 无锡 214023)

摘要: 生物胺传统的定量分析方法存在着分析时间长、提取效率低、溶剂消耗量大等前处理问题, 基于此综述了近十年来快速、精准、绿色的前处理技术(包括分散液液微萃取、固相微萃取、分散固相萃取等)和检测方法的研究进展, 并对这些技术的应用前景进行了展望(引用文献 56 篇)。

关键词: 生物胺; 快速精准前处理; 检测; 综述

中图分类号: O65

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2024)03-0339-10

生物胺(BAs)是一类具有生物活性的含氮小分子, 它是氨基酸在一定条件下发生脱羧反应或者醛酮类物质通过复杂反应转化形成的^[1]。多项研究发现, 在肉类^[2]、鱼类^[3]、豆制品^[4]、奶酪^[5]、酒类^[3]、泡菜^[6]、豆瓣酱^[7]、茶叶^[8]等食用物质以及血液^[9]、尿液^[9-10]、脑脊液^[11]等生物样本中均有 BAs 检出。一方面, 在食用物质中, 除了精胺(SPM)和亚精胺(SPD)外, 其他多种 BAs 均需要微生物的参与才能产生, 因此 BAs 含量的变化在一定程度上可以反映食品微生物污染状况和食品的新鲜程度^[12]。另一方面, BAs 在蛋白质的合成以及 DNA 的复制过程中起着重要作用, 因此对生物体是有益的; 然而, 过量的 BAs 能够引起食物中毒、腹泻以及心动过速等症状, 对生物体又是有害的^[13]。进一步研究发现, 多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)、腐胺(PUT)、亚精胺等含量可以为癌症^[14-16]、妊娠糖尿病^[17]、骨折^[18]等疾病的诊断提供依据。因此, 建立快速、准确、绿色的 BAs 检测方法对保障食品质量和安全、诊断和治疗疾病具有重要意义。本工作对 BAs 的种类和性质、BAs 样品前处理技术和检测方法的最新进展进行了综述。

1 生物胺的种类和性质

BAs 按来源可分为外源性生物胺[组胺(HIS)、

酪胺(TYR)、腐胺、尸胺(CAD)、色胺(TRY)、 β -苯乙胺(PHE)、亚精胺和精胺等]和内源性生物胺(多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素和 5-羟色胺等), 这些生物胺主要是通过发酵菌群和酶的催化作用协同诱导氨基酸发生脱羧反应形成的^[13]。组胺和酪胺是组氨酸和酪氨酸发生脱羧反应形成的, 是目前已知毒性最大的生物胺^[19]。腐胺和尸胺是由鸟氨酸和酪氨酸脱羧转化形成的, 它们具有两个氨基, 能够降低组胺和酪胺的分解代谢并导致组胺和酪胺的肠道吸收和毒性增强^[20]。色胺和 β -苯乙胺是由色氨酸和苯丙氨酸转化而来的, 毒性较小, 但是过量摄入会诱发偏头痛, 而且可与亚硝酸盐反应生成致癌物质亚硝胺, 进一步危害人体健康^[21]。亚精胺和精胺具有多个氨基, 是由腐胺和 S-腺苷甲硫氨酸经多种酶催化形成的, 在体内参与基因的转录和翻译, 与细胞分裂、生长和存活密切相关, 然而体内亚精胺和精胺蓄积过多, 会损害肾脏和生殖系统^[22]。多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素和 5-羟色胺是分别经酪氨酸和色氨酸转化而来的单胺类神经递质, 在大脑和神经信号传导中起着重要的作用, 其水平与许多类型疾病的发生和发展相关, 例如抑郁症、阿尔茨海默病、帕金森病和嗜铬细胞瘤等^[23]。综上所述, 检测食品和生物样本中 BAs 的含量对于引导人们健康饮食以及增强人们健康意识具有重要意义。

2 BAs 样品前处理方法

鉴于食品和生物样本中 BAs 含量对食品质量与安全以及对人类疾病风险预测与诊断的重要性, 这些化合物的鉴定和定量已成为一个重要的研究和发展领域。然而食品和生物样本基质复杂, 必须选

收稿日期: 2023-18-25

基金项目: 国家自然科学基金(22075106); 无锡市医学创新团队项目(CXTD2021004)

作者简介: 陈海新, 硕士研究生, 研究方向为生物胺快速检测方法的开发与应用

* 通信联系人。konglingcan2010@163.com

择适宜的前处理方法减少基质干扰以实现目标物检测信号的增强。传统的前处理方法(比如液液萃取和固液萃取)有机溶剂消耗量大、样品提取时间长且效率低,难以满足人们对食品和生物样品中 BAs 快速精准检测的需求。基于传统的前处理方法产生的分散液液微萃取(DLLME)、固相微萃取(SPME)、分散固相萃取(DSPE)改进了传统前处理方法的不足,具有操作简单快速、有机溶剂消耗量少、提取效率高的优点,成为了目前 BAs 分析研究的热点。

2.1 分散液液微萃取

DLLME 是基于样品溶液、萃取试剂(与水不相溶)和分散试剂(与水相和萃取试剂混溶)组成的三元溶剂体系开发的一种新型液液微萃取技术,该技术将萃取试剂完全分散在样品溶液中以增大萃取试剂和溶液的接触面积,可以在很短的时间内达到萃取平衡^[24]。这种新型萃取方法简单快速、试剂消耗少,适用于从水样中提取和预浓缩有机化合物。研究发现,萃取试剂和分散试剂的种类和体积均不同程度地影响分析物的提取效率和提取时间,然而目前 DLLME 大多存在着萃取试剂毒性大、分散试剂选择难的问题^[25],为了解决这些问题,研究人员将低毒性的萃取试剂、超声技术以及环保且不需要分散试剂的新型溶剂[离子液体(ILs)、共晶溶剂(DES)]引入 DLLME 中。

2.1.1 超声辅助分散液液微萃取

超声辅助分散液液微萃取(UAD-DLLME)是一种快速、高效的样品提取方法,近年来广泛应用于复杂基质中 BAs 的提取。比如,HE 等^[26]以 UAD-DLLME 为样品前处理方法,采用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS),实现了酒、奶酪、香肠、鱼中生物胺和氨基酸的高效测定。首先,将样品溶液调节至 pH 9.2,再加入衍生试剂(4'-甲酰氯罗丹明)、萃取试剂(溴苯)、分散试剂(乙腈)进行振荡混合、水浴超声、离心分离,用乙腈稀释后测定。结果显示,该方法简单快速(BAs 和氨基酸的衍生和萃取过程仅需 1 min),而且基质效应低(85.0%~116%)、回收率高(79.0%~126%),为复杂食品中 BAs 和氨基酸的检测提供了一个很好的思路。ZHAO 等^[27]以 UAD-DLLME 作为前处理方法提取尿液中的神经递质,在样品中加入 4'-甲酰氯罗丹明、4-溴苯甲醚、乙腈的混合物进行反应,其中乙腈为分散试剂、4'-甲酰氯罗丹明为衍生试剂,萃取后采用 UHPLC-MS/MS 进行检测。在该方法中,神

经递质的提取可在 1 min 内完成,而且基质效应低(90.6%~108%)、回收率高(91.7%~105%),为尿样中神经递质的检测提供了一个很好的参考,也为一些疾病的诊断(如阿尔茨海默病)提供了数据支撑。值得注意的是,在 DLLME 中,超声能够加快萃取平衡过程,然而超声时间过长容易导致生物胺降解,提取效率降低,因此超声时间不宜过长。

2.1.2 基于新型溶剂的分散液液微萃取

离子液体是由有机阳离子与有机或无机阴离子组成的低温熔融盐,具有毒性低、挥发性弱、稳定性好、溶解能力强、结构可设计等优良性能。离子液体作为萃取溶剂应用于 DLLME 中,有效避免了高毒性萃取溶剂的使用^[16,28]。比如,HUANG 等^[29]以 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(C_4MIMPF_6)为离子液体对啤酒中的酪胺、章鱼胺(OA)和苯乙胺的衍生物进行提取,并采用高效液相色谱-荧光检测法(HPLC-FLD)进行检测。结果发现,该方法简单快速(提取时间仅 1 min)、回收率高(90.2%~116%)。同样地,李宏等^[30]将疏水性的离子液体(1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐)和亲水性的离子液体(1-己基-3-甲基咪唑四氟硼酸)分别作为 DLLME 的萃取试剂和分散试剂提取腌菜中的 BAs,并采用 HPLC-FLD 进行检测。结果显示,该方法不仅提取时间短(提取过程用时 1 min),而且回收率高(81.0%~109%)。此外,ZHOU 等^[31]以离子液体(1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐)提取人尿中的多种神经递质,并采用 UHPLC-MS/MS 进行检测,回收率高达 72.7%~125%。总之,基于离子液体的 DLLME(ILs-DLLME)具有环保低毒、提取时间短、提取效果好的优点,为食品和生物样品中 BAs 的准确测定提供了一种很好的前处理技术。为了方便地分离离子液体,研究人员对离子液体进行了改性,制备了具有磁性的离子液体(MILs),在磁铁的吸引下就可以实现该离子液体与水溶液的分离,避免了离心操作^[32-33]。比如,CAO 等^[3]以自制的三己基(十四烷基)氯化磷和四氯合钴形成的配合物($[P_{6,6,6,14}^+][CoCl_4^{2-}]$)作为 MILs 提取葡萄酒和鱼类中的 BAs 衍生物,并通过磁铁将离子液体从水溶液中分离出来,经乙腈溶解后采用高效液相色谱-紫外检测法(HPLC-UV)进行检测。结果发现,葡萄酒和鱼类中 BAs 的回收率分别高达 93.2%~103%和 94.5%~102%。离子液体对 BAs 的高吸附性能与它们之间的相互作用有关,因此选择合适的离子

液体以及合适酸度的样品溶液是实现复杂基质中 BAs 快速富集的关键^[34]。

共晶溶剂是由两种(或者 3 种)固体物质在一定条件下形成的类似于离子液体的溶剂,其中一种物质作为氢键受体(如季胺盐),另一个作为氢键供体(如羧酸、醇和碳水化合物)^[35]。这样形成的氢键改变了单个固体之间的相互作用,导致共晶溶剂的形成。与离子液体相比,共晶溶剂的组成更加多元化,而且便宜、安全,因而在 DLLME 的应用方面受到越来越多的关注。比如,NEMATİ 等^[36]在 pH 5 的条件下用己二酸和氯化胆碱原位制备了一种共晶溶剂,并实现了金枪鱼中 BAs 的同时提取,之后利用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DVD)对 BAs 进行检测。该方法的回收率为 82.0%~93.0%,相对标准偏差(RSD)为 7.3%~7.9%,为复杂样品中 BAs 的提取提供了一种很好的思路。尽管目前共晶溶剂在 BAs 萃取方面的研究还比较少,但是共晶溶剂具有种类多、污染小以及效率高的诸多优点,相信随着共晶溶剂形成机理以及 BAs 提取机理的深入研究,共晶溶剂的更多应用将会开发出来。

DLLME 中的萃取试剂逐渐从有毒的有机溶剂发展成为离子液体和共晶溶剂,导致生物胺的提取过程更加方便环保。然而,DLLME 技术在生物胺的应用还比较局限。比如,很多有重要生物活性的生物胺还没有确定的 DLLME 方法,一些与特定疾病相关的生物胺(两种或者多种)也没有建立 DLLME 方法,更不用说利用生物胺评价疾病风险了。

2.2 固相微萃取

SPME 是一种通过吸附将待测物质从样品溶液提取到 SPME 纤维上,再经加热(或溶剂解吸)将待测物质解吸出来的技术。该技术具有自动化程度高、基质效应低、提取效率高、精密度高、分析时间短的优点,在固体样品中 BAs 的提取以及大规模样本的处理方面表现良好,可与 DLLME 技术相互补充来提取各种基质中的生物胺。然而目前商业化的 SPME 纤维存在着价格昂贵、质地脆弱、选择性差、提取能力低的问题,导致了 SPME 发展受限^[31,37]。为了弥补 SPME 纤维的不足,近年来发展了多种基于新型吸附材料的 SPME 纤维涂层,如硅基材料、共价有机骨架(COFs)、金属有机骨架(MOFs)。

硅基材料因其孔隙率高、比表面积大、化学稳定性好、可重复利用以及结构和孔径可变的特点,近年

来越多地应用于分析物的吸附中^[38]。比如,CHEN 等^[39]以 MCM-41 为基底材料制备了一种表面具有酸性基团和疏水基团的 MCM-T-H-SPME 纤维,并用于提取猪肉和鱼肉中的 BAs 衍生物,最后经热解吸后采用气相色谱-质谱法(GC-MS)进行分析。结果发现自制纤维对碱性 BAs 不仅具有高度的亲和力(猪肉和鱼肉 BAs 的回收率分别为 78.5%~123%和 74.6%~118%),而且具有良好的稳定性(重复使用 50 次仍保持良好的吸附性能)。这些数据表明 MCM-T-H-SPME 纤维在食品 BAs 的提取中具有很好的应用潜力。

COFs 材料结构稳定、比表面积大,而且孔隙规则、孔隙率高,这些性能吸引着研究人员努力探索它们在吸附方面的应用。基于此,张鹏玲等^[40]自制了一种 COFs(COF-DL229)涂层纤维提取葡萄酒中的芳香胺(苯乙胺和酪胺),并通过 GC-MS 对其进行检测。结果发现 COF-DL229 对芳香胺的提取效率接近 100%,该方法为其他食品中 BAs 的研究提供了一种很好的思路。然而目前关于 COFs 吸附脂肪胺的研究还很不足,为了扩大 COFs 的应用范围,COFs 材料的开发和改性研究将是未来发展的一个重要方向。

MOFs,特别是其亚家族——沸石咪唑酸盐骨架(ZIFs),不仅孔隙率高、比表面积大,而且在中性和碱性溶液中的稳定性好,因此在吸附分离领域引起了人们的广泛关注^[41]。比如,HUANG 等^[42]利用自制的 ZIF-8 涂层纤维提取鱼肉中的非挥发性脂肪族胺衍生物,经热解吸后进入 GC-MS 进行分析。结果发现,该方法不仅检出限低($27.1\sim 33.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、回收率高(78.6%~104%),而且经济环保(纤维可重复使用 30 次),为鱼肉中 BAs 快速高效检测提供了一种很好的方法。同样地,LAN 等^[43]利用自制的疏水性 ZIF-8 涂层纤维提取废水、鲑鱼和蘑菇中的三甲胺(TMA)和三乙胺(TEA),并采用 GC-MS 进行检测。结果显示,整个提取过程仅需 5 min,而且回收率高(91.6%~92.1%)、稳定性好(可重复使用 130 次)。这些结果说明 MOFs 涂层纤维在 BAs 检测中具有有良好的应用前景,并为其他食品中的 BAs 检测提供了重要参考。

总之,新型吸附材料作为 SPME 纤维吸附 BAs,不仅快速、灵敏、成本低,而且提取效率高、可以重复利用多次,在一定程度上解决了商业 SPME 纤维种类不足的问题。然而这些新型 SPME 纤维

材料也存在着一些问题:(1)在极端 pH 条件下,纤维的吸附能力大幅度降低;(2)在复杂基质中(比如血和尿),纤维的选择性和灵敏度明显受限。这些问题的解决需要化学材料和公共卫生研究人员进行深入研究。

2.3 分散固相萃取

DSPE 是一种快速、简单、高效、经济的样品前处理技术。与 SPME 相比,DSPE 无需制备纤维涂层,因而材料的选择(吸附剂)更加灵活多样,一定程度上更适合在吸附富集领域进行应用。众所周知,吸附剂与 BAs 之间的相互作用是 BAs 高效吸附富集的重要因素,寻找合适的吸附剂自然成为人们提取 BAs 的重要研究方向。金属纳米颗粒(MNPs)、碳基材料、COFs、分子印迹聚合物(MIPs)这些新兴的吸附材料不仅具有大的比表面积、可调节的孔径结构,而且毒性低、稳定性好^[44-45],在生物胺的分离和纯化方面具有很好的应用前景。

2.3.1 基于金属纳米颗粒的分散固相萃取

MNPs 具有大的比表面积和强的吸附能力,但是在复杂基质中 MNPs 很容易形成聚集体,导致吸附能力减小,吸附选择性降低^[46]。为了减弱和消除 MNPs 的聚集行为,研究人员在 MNPs 上进行了很多修饰和改性。例如, MOLAEI 等^[47]通过表面可逆加成断裂链转移共聚的方法对 Fe_3O_4 纳米颗粒进行表面改性,制备了磁性纳米复合材料(Fe_3O_4 -g-GO-g-RAFT),并将其应用于熏鱼中 BAs 的提取。涡旋振荡后,用磁铁收集磁性吸附剂,然后用苯甲酰氯和乙腈的混合液洗脱重新产生 BAs 溶液,最后采用紫外检测器检测 BAs。该方法溶剂消耗量少(仅用 0.5 mL)、回收率高(98.6%~104%),为熏鱼中 BAs 的快速高效提取提供了一种很好的方法。JIANG 等^[48]基于化学多步共价修饰制备了氨基苯硼酸功能化的磁性纳米粒子(Fe_3O_4 @APBA NPs),并将其应用于尿液样品中儿茶酚胺(CAs)的提取。磁性纳米粒子经过酸化甲醇溶液洗脱、氮气浓缩后,采用高效液相色谱-电化学检测器(HPLC-ECD)进行检测。结果表明 CAs 的检出限为 2.0~7.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,回收率为 92.0%~108%。该方法良好的灵敏度和选择性为尿液样品中 CAs 水平分析提供了一种很好的检测方法。基于 MNPs 的 DSPE 显示了快速简单、经济环保、提取效率高的优势,然而 MNPs 制备繁琐、改性后磁性减弱等问题限制了

该技术的发展。

2.3.2 基于碳基材料的分散固相萃取

常见的碳基材料(石墨烯、碳纳米管、碳纳米纤维等)对 BAs 的吸附效果一般不理想,通常利用 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等官能团修饰或者与其他新型材料杂化的方法改性碳基材料、改善其吸附性能。比如,XU 等^[49]构建了一种新型三维 N 掺杂的磁性多孔碳材料(3D N-MPCs),并将其作为吸附剂与衍生试剂(丹磺酰氯)一同加入样品溶液中,微波照射 135 s 后用乙腈洗脱 BAs 衍生物,并经氮气浓缩、乙腈复溶采用 HPLC-UV 进行分析。在该方法中,固相萃取富集以及 BAs 衍生同时进行,整个过程仅需要 135 s,并且检出限低(0.059~0.073 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、回收率(92.3%~109%)和精密度(RSD 小于 5.9%)高、稳定性好(可重复使用 10 次)。因此,基于碳基材料的 DSPE 是一种快速、简单、高效的前处理技术,为复杂基质中 BAs 的分离和纯化提供了一种良好的处理技术。

2.3.3 基于共价有机骨架的分散固相萃取

张颖等^[50]制备了一种共价有机骨架(CSTF-COFs),并利用该材料和含 5%(体积分数)甲酸的乙腈溶液作为吸附剂和洗脱剂,对红酒中的 BAs 及其代谢物进行净化与富集,最后采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)进行检测。结果发现,CSTF-COFs 骨架材料对 BAs 的提取过程不仅时间短(2 min),而且回收率高(80.1%~107%)。同样地,WANG 等^[51]利用自制的 COFs 提取人尿中的单胺类神经递质,随后用 5%(体积分数)乙酸乙酯溶液洗脱,采用 HPLC-FLD 进行检测。该方法提取时间为 10 min,回收率为 86.3%~115%。总之,基于 COFs 的 DSPE 具有操作简捷、提取效率高的优点,为复杂基质中 BAs 的分离和纯化提供了参考。

2.3.4 基于分子印迹聚合物的分散固相萃取

LULIŃSKI 等^[52]制备了一种磁性分子印迹聚合物(MMIPs)吸附啤酒中的酪胺,并采用液相色谱-质谱法(LC-MS/MS)进行检测。该方法的检出限约为 0.033 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,回收率均值为 89.0%。同样地,ZENG 等^[53]也制备了一种 MMIPs,随后通过 MMIPs 和 BAs 之间的氢键作用吸附人尿中的 BAs,并采用 HPLC-FLD 进行检测。结果发现,BAs 的回收率高达 93.2%~113%。在基于 MMIPs 的 DSPE 中,MMIPs 对分析物的高效富集是基于二者间的氢

键作用,而氢键的形成与样品溶液的酸度有关,因此样品溶液酸度是该技术条件优化的重要因素。

2.4 其他前处理方法

DANIEL 等^[54]采用毛细管电泳-串联质谱法(CE-MS/MS)检测啤酒和葡萄酒中的 BAs。该方法唯一的预处理步骤是利用聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)吸附酒中的酚类化合物,而且提取时间短(3 min)、检出限低($1\sim 2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、回收率高($87.0\%\sim 113\%$),为酒类中 BAs 的检测提供了一种很好的思路。然而由于肉类、鱼类等食品以及生物样品的基质更加复杂,对 BAs 的准确定量干扰更大,在一定意义上限制了该方法的应用范围。

3 检测方法

目前 BAs 的检测方法包括液相色谱-紫外检测法(LC-UV)^[3,47]、液相色谱-荧光检测法(LC-FLD)^[29,30,51,53]、电化学检测法(ECD)^[48]、CE-MS/MS^[54]、GC-MS^[39,40,42,43]、薄层色谱法(TLC)^[55]、HPLC-MS/MS(或者 LC-MS/MS、UHPLC-MS/

MS)^[26,27,31,50,52]、超高效合相色谱法(UPCC)^[56]等。LC-UV 和 LC-FLD 操作简单,但是样品通常需要衍生化,导致测定结果可重复性较差。ECD 普及率高、操作简单,但是电流信号容易受到其他物质的信号干扰,因此给 BAs 的定性带来了一定的不确定性。CE 具有分离效率高、运行成本低等优点,但是纯化的样品更适合 CE 检测,这一点给前处理技术带来了更高的要求和挑战。GC-MS 具有灵敏度高、分离效率高的优点,然而其色谱峰容易拖尾,进而影响 BAs 的准确度和灵敏度。TLC 可以快速分离和测定多种 BAs,然而有些生物胺需要衍生化操作,进而引起样品测定的精密度降低。HPLC-MS/MS 虽然价格昂贵,但是其分辨率高,无需衍生即可分析绝大部分 BAs。UPCC 价格昂贵、普及率低,但是其以二氧化碳和少量有机试剂为流动相,具有环保、分析时间短、分离效率高、灵敏度高、重现性好的优点,未来可能替代 HPLC-MS/MS 成为检测不同基质生物胺的常用技术。表 1 列举了生物胺的前处理技术和检测方法。

表 1 生物胺的前处理技术和检测方法
Tab.1 Pretreatment techniques and detection methods of biogenic amines

基质	分析物	前处理技术	检测技术	检出限	回收率/%	提取时间/min	分析时间/min	参考文献
啤酒	OA, TRY, PHE	ILs-DLLME	HPLC-FLD	0.25~50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	90.2~116	1	4	[29]
红酒、啤酒、葡萄酒、奶酪、香肠和鱼	HIS、TRY、TYR、PUT、CAD、PHE、SPM、OA 左旋多巴(L-DOPA)、DA、NE、E、3-甲氧基酪胺(3-MT)、3-甲氧基去甲肾上腺素(NME)、3-甲氧基肾上腺素(ME)、高原儿茶酸(DOPAC)、DL-3,4-二羟基杏仁酸(DOMA)、DL-3,4-二羟基苯基乙醇(DHPG)、高香草酸(HVA)、香草扁桃酸(VMA)、4-羟基-3-甲氧基苯乙二醇(MHPG)、5-HT、5-羟基吲哚-3-乙酸(5-HIAA)、谷氨酸(Glu)、 γ -氨基丁酸(GABA)、甘氨酸(Gly)、天冬氨酸(Asp)	UAD-DLLME	UHPLC-MS/MS	0.3~0.7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	79.0~126	1	10	[26]
鼠尿		UAD-DLLME	UHPLC-MS/MS	0.1~10 $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$	91.7~105	1	16	[27]

表 1(续)

基质	分析物	前处理技术	检测技术	检出限	回收率/%	提取时间/min	分析时间/min	参考文献
腌菜	HIS、PUT、CAD	ILs-DLLME	HPLC-FLD	0.39~ 0.91 mg•kg ⁻¹	81.0~ 109	1	25	[30]
人尿	3-吲哚丙酸(IPA)、5-HIAA、乙酰胆碱(Ach)、5-HT、DA、E、HVA、GABA、胆碱(Cho)、NE、牛磺酸(Tau)、L-丙氨酸(Ala)、Gly、Glu、HIS	ILs-DLLME	UHPLC-MS/MS	0.05~ 4.88 μg•L ⁻¹	72.7~ 125	4.84	4.5	[31]
葡萄酒和鱼肉	TYR、PHE、HIS、TRY、SPD、SPM	MILs-DLLME	HPLC-UV	1.3~ 3.9 μg•L ⁻¹ 和 1.2~ 3.8 μg•kg ⁻¹	93.2~ 103 和 94.5~ 102	10	17	[3]
金枪鱼	TRY、HIS、TYR、DA	DES-DLLME	HPLC-DAD	0.25~ 0.50 ng•g ⁻¹	82.0~ 93.0	6	15	[36]
猪肉和鱼	CAD、PUT、HIS、TRY、TYR、PHE	MCM-T-H-SPME	GC-MS	1.1~ 26.8 μg•L ⁻¹	78.5~ 123 和 74.6~ 118	30	25	[39]
葡萄酒	PHE、TRY	3D-COF-SPME	GC-MS	0.01~ 1 μg•L ⁻¹	87.3~ 117	30	17	[40]
鱼肉	PUT、CAD	ZIF-8-SPME	GC-MS	27.1~ 33.2 μg•L ⁻¹	78.6~ 104	15	17.3	[42]
蘑菇和鲑鱼	TMA、TEA	ZIF-8-SPME	GC-MS	1 μg•L ⁻¹	91.6~ 92.1	5	14	[43]
熏鱼	HIS、CAD、PUT、TRY	Fe ₃ O ₄ -g-GO-g-RAFT-DSPE	HPLC-UV	0.009~ 0.017 mg•L ⁻¹	98.6~ 104	15	10	[47]
人尿	NE、E、DA	Fe ₃ O ₄ @APBA NP _s -DSPE	HPLC-ECD	2.0~ 7.9 μg•L ⁻¹	92.0~ 108	5	40	[48]
橙汁和啤酒	TYR、PHE、HIS、TRY、SPM、SPD	3D N-MPCSS-DSPE	HPLC-UV	0.059~ 0.073 μg•L ⁻¹	92.3~ 109	2.25	18	[49]
红酒	HIS、SPD、E、TYR、SPM、NE、DA、TRY、PHE、CAD、PUT、5-HIAA、DOPAC、HVA	CSTF-COF _s -DSPE	HPLC-MS/MS	0.03~ 5.18 μg•L ⁻¹	80.1~ 107	2	6	[50]
人尿	NE、E、DA、异丙肾上腺素(IP)、5-HT	COF _s -DSPE	HPLC-FLD	0.31~ 0.54 μg•L ⁻¹	86.3~ 115	10	25	[51]
啤酒	TYR	MMIP _s -DSPE	LC-MS/MS	0.033 mg•L ⁻¹	89.0	5	5	[52]

表 1(续)

基质	分析物	前处理技术	检测技术	检出限	回收率/%	提取时间/min	分析时间/min	参考文献
人尿	NME、ME、3-MT	MMIPs-DSPE	HPLC-FLD	4.2~ 9.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	93.2~ 113	8	12	[53]
啤酒和葡萄酒	SPM、SPD、PUT、CAD、HIS、 PHE、TYR、TRY	PVPP-DSPE	CE-MS/MS	1~ 2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	87.0~ 113	3	10	[54]
红酒	CAD、PUT、HIS、TRY	PVPP-DSPE	TLC	0.6~ 0.7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	89.0~ 110	—	—	[55]
发酵食品	SPM、SPD、CAD、TYR、 PHE、HIS、TRY	LLE	UPCC-UV	21~ 67 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	—	10	6.5	[56]

4 结语与展望

近年来,研究人员开发了多种基于新型溶剂(ILs、DES)或新型吸附材料(硅基材料、COFs、MOFs、MNP s、碳基材料、MIPs、PVPP)的前处理方法,并已成功应用于食品和生物样品中 BA s 的提取。与基于传统萃取溶剂和吸附剂的前处理技术相比,基于新型溶剂或者新型吸附材料的前处理技术更加快速、高效、经济、环保。这些前处理技术的优势主要通过以下途径实现:(1)新型溶剂和新型吸附材料与生物胺之间的 π - π 堆积、氢键、亲疏水相互作用以及静电作用,导致了 BA s 的高效吸附;(2)新型吸附材料大的比表面积为 BA s 的吸附提供了多个吸附位点,而且材料结构稳定,可以反复使用多次。然而基于新型溶剂或者新型吸附材料的前处理技术还存在着以下不足:(1)这些材料在极端 pH 条件和复杂基质中的选择性和灵敏度明显受限,导致它们在尿液、血液、脑脊液等复杂基质中的应用明显不足;(2)很多特定疾病相关的 BA s(两种或者多种)还没有建立确定的样品前处理方法,更不用说用来预测和评估疾病风险了。因此,通过新型溶剂和新型吸附材料结构和孔径的修饰以及与其他材料的共价和非共价改性研究,增强其对生物样品中 BA s 的选择性吸附并用于疾病风险评估是未来前处理技术发展的重要方向。

目前,食品和生物样品中 BA s 的检测方法各有优缺点,在实际应用时可根据样品特点和实验室情况选择合适的方法。但是随着人们对健康需求的不断提升,建立快速、高效、灵敏、准确的 BA s 检测方法十分迫切,因此具有高分辨率、高灵敏度以及高通量的分析技术将是今后食品和生物样品 BA s 定量分析的重要方向。而且,这些检测技术和新型前处理技术的

“强强联合”有望实现食品和生物样品中多种 BA s 的快速精准检测,可为生物体内特定 BA s 的水平与相关疾病的联系提供技术支撑。

参考文献:

[1] BUŇKOVÁ L, BUŇKA F, KLČOVSKÁ P, et al. Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin[J]. Food Chemistry, 2010, 121 (1):203-206.

[2] YANG X, HE L L, XU Z Q. Pressure-assisted electrokinetic injection for the stacking of biogenic amines gives enhancement factor up to 1 000 in CE with UV detection[J]. Analytical Methods: Advancing Methods and Applications, 2022, 14(18):1782-1787.

[3] 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.

[4] 胡淑贞,张进杰,尹源明,等. 高效液相色谱法检测臭豆腐干中的氨和 10 种生物胺[J]. 粮食科技与经济, 2013, 38(3):27-29.

[5] 杨姗姗,杨亚楠,李雪霖,等. 在线固相萃取-毛细管高效液相色谱联用测定奶酪中的生物胺[J]. 分析化学, 2016, 44(3):396-402.

[6] 吴训忠,支菁蕾,阚建全,等. 发酵辣椒中生物胺含量及其品质分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11):288-294.

[7] 郝宇,孙波,张宇,等. 高效液相色谱法测定东北农家酱中的 5 种生物胺[J]. 食品科学, 2019, 40(16):343-349.

[8] 米雨荷. 茶叶中生物胺 UPLC 检测方法的建立及加工工艺对其含量的影响[D]. 南京:南京农业大学, 2016.

[9] NAIK V G, KUMAR V, BHASIKUTTAN A C, et al. Solid-supported amplification of aggregation emission: A

- tetraphenylethylene-cucurbit [6] uril @ Hydroxyapatite-based supramolecular sensing assembly for the detection of spermine and spermidine in human urine and blood[J]. ACS Applied Bio Materials, 2021, 4(2): 1813-1822.
- [10] OEDIT A, DUIVELSHOF B, LINDENBURG P W, et al. Integration of three-phase microelectroextraction sample preparation into capillary electrophoresis [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1610: 460570.
- [11] TIGCHELAAR C, MULLER W D, ATMOSOERODJO S D, et al. Concentration gradients of monoamines, their precursors and metabolites in serial lumbar cerebrospinal fluid of neurologically healthy patients determined with a novel LC-MS/MS technique[J]. Fluids and Barriers of the CNS, 2023, 20(1): 13.
- [12] CHENG W W, SUN D W, CHENG J H. Pork biogenic amine index (BAI) determination based on chemometric analysis of hyperspectral imaging data[J]. LWT, 2016, 73: 13-19.
- [13] WÓJCIK W, ŁUKASIEWICZ M, PUPPEL K. Biogenic amines: formation, action and toxicity-a review [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(7): 2634-2640.
- [14] YU C Y, WANG L Y, ZHENG J S, et al. Nanoconfinement effect based in-fiber extraction and derivatization method for ultrafast analysis of twenty amines in human urine by GC-MS: Application to cancer diagnosis biomarkers' screening [J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1217: 339985.
- [15] DAS R, BEJ S, MURMU N C, et al. Selective recognition of ammonia and aliphatic amines by C-N fused phenazine derivative: A hydrogel based smartphone assisted 'opto-electronic nose' for food spoilage evaluation with potent anti-counterfeiting activity and a potential prostate cancer biomarker sensor [J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1202: 339597.
- [16] KOSSAKOWSKA N, OLEDZKA I, KOWALIK A, et al. Application of SPME supported by ionic liquids for the determination of biogenic amines by MEKC in clinical practice[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 173: 24-30.
- [17] LIU C, WANG Y Y, ZHENG W, et al. Putrescine as a novel biomarker of maternal serum in first trimester for the prediction of gestational diabetes mellitus: A nested case-control study[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 759893.
- [18] KONG S H, KIM J H, SHIN C S. Serum spermidine as a novel potential predictor for fragility fractures[J]. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2021, 106(2): e582-e591.
- [19] ŚWIDER O, ROSZKO M Ł, WÓJCICKI M, et al. Biogenic amines and free amino acids in traditional fermented vegetables-dietary risk evaluation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(3): 856-868.
- [20] RUIZ-CAPILLAS C, JIMÉNEZ-COLMENERO F. Biogenic amines in meat and meat products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2004, 44(7/8): 489-499.
- [21] RUIZ-CAPILLAS C, HERRERO A M. Impact of biogenic amines on food quality and safety[J]. Foods, 2019, 8(2): 62.
- [22] GIVANOUDI S, HEYNDRIKX M, DEPUYDT T, et al. A review on bio- and chemosensors for the detection of biogenic amines in food safety applications: The status in 2022[J]. Sensors, 2023, 23(2): 613.
- [23] FREDJ Z, SAWAN M. Advanced nanomaterials-based electrochemical biosensors for catecholamines detection: Challenges and trends[J]. Biosensors, 2023, 13(2): 211.
- [24] REZAEI M, ASSADI Y, MILANI HOSSEINI M R, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1116(1/2): 1-9.
- [25] REZAEI M, YAMINI Y, FARAJI M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(16): 2342-2357.
- [26] HE Y R, ZHAO X N, WANG R J, et al. Simultaneous determination of food-related biogenic amines and precursor amino acids using in situ derivatization ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(43): 8225-8234.
- [27] ZHAO X N, HE Y R, LI M, et al. Analysis of amino acid and monoamine neurotransmitters and their metabolites in rat urine of Alzheimer' s disease using in situ ultrasound-assisted derivatization dispersive liquid-liquid microextraction with UHPLC-MS/MS [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 135: 186-198.
- [28] GUAN L Y, LUO Q, LIANG N, et al. Determination of lignans in schisandra sphenanthera and schisandra chinensis using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction and high-performance liquid chromatography [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2018, 34

- (6):887-892.
- [29] HUANG K J, JIN C X, SONG S L, et al. Development of an ionic liquid-based ultrasonic-assisted liquid-liquid microextraction method for sensitive determination of biogenic amines: Application to the analysis of octopamine, tyramine and phenethylamine in beer samples [J]. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879(9/10): 579-584.
 - [30] 李宏, 史巧, 王馨蕊, 等. 柱前荧光衍生-离子液体微萃取-高效液相色谱法测定发酵食品中生物胺[J]. *分析科学学报*, 2022, 38(6): 751-756.
 - [31] ZHOU G S, YUAN Y C, YIN Y, et al. Hydrophilic interaction chromatography combined with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for determination of underivatized neurotransmitters in dementia patients' urine samples [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1107: 74-84.
 - [32] HAYASHI S, HAMAGUCHI H O. Discovery of a magnetic ionic liquid [bmim] FeCl₄ [J]. *Chemistry Letters*, 2004, 33(12): 1590-1591.
 - [33] SHI Z G, LEE H K. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with dispersive μ -solid-phase extraction for the fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples [J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(4): 1540-1545.
 - [34] TANG T T, CAO S R, XI C X, et al. Multifunctional magnetic chitosan-graphene oxide-ionic liquid ternary nanohybrid: An efficient adsorbent of alkaloids [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 255: 117338.
 - [35] LI X X, ROW K H. Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation [J]. *Journal of Separation Science*, 2016, 39(18): 3505-3520.
 - [36] NEMATI M, ALI FARAJZADEH M, MOHEBBI A, et al. Simultaneous application of deep eutectic solvent as extraction solvent and ion-pair agent in liquid phase microextraction for the extraction of biogenic amines from tuna fish samples [J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 105496.
 - [37] JALILI V, BARKHORDARI A, GHIASVAND A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews [J]. *Microchemical Journal*, 2020, 152: 104319.
 - [38] DELINSKA K, RAKOWSKA P W, KLOSKOWSKI A. Porous material-based sorbent coatings in solid-phase microextraction technique: Recent trends and future perspectives [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 143: 116386.
 - [39] CHEN M F, LAN H Z, PAN D D, et al. Hydrophobic mesoporous silica-coated solid-phase microextraction arrow system for the determination of six biogenic amines in pork and fish [J]. *Foods*, 2023, 12(3): 578.
 - [40] 张鹏玲, 李忠月. 基于 3D-COF 的 SPME 纤维的制备并应用于苯乙胺和酪胺的检测 [J]. *广东化工*, 2022, 49(6): 185-187.
 - [41] LU G, HUPP J T. Metal-organic frameworks as sensors: A ZIF-8 based Fabry-Pérot device as a selective sensor for chemical vapors and gases [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(23): 7832-7833.
 - [42] HUANG J, OU C R, LV F Y, et al. Determination of aliphatic amines in food by on-fiber derivatization solid-phase microextraction with a novel zeolitic imidazolate framework 8-coated stainless steel fiber [J]. *Talanta*, 2017, 165: 326-331.
 - [43] LAN H Z, RÖNNKÖ T, PARSHINTSEV J, et al. Modified zeolitic imidazolate framework-8 as solid-phase microextraction Arrow coating for sampling of amines in wastewater and food samples followed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1486: 76-85.
 - [44] SOCAS-RODRÍGUEZ B, HERNÁNDEZ-BORGES J, HERRERA-HERRERA A V, et al. Multiresidue analysis of oestrogenic compounds in cow, goat, sheep and human milk using core-shell polydopamine coated magnetic nanoparticles as extraction sorbent in micro-dispersive solid-phase extraction followed by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(7): 2031-2042.
 - [45] TRIPATHI N K. Porous carbon spheres: Recent developments and applications [J]. *AIMS Materials Science*, 2018, 5(5): 1016-1052.
 - [46] HOU X D, WANG X S, SUN Y X, et al. Graphene oxide for solid-phase extraction of bioactive phenolic acids [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(14): 3541-3549.
 - [47] MOLAEI R, TAJIK H, MORADI M, et al. Application of novel Fe₃O₄-g-GO-g-RAFT agent nanoabsorbents for D-SPME of biogenic amines in smoked fish [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 87: 103400.
 - [48] JIANG L W, CHEN Y B, LUO Y M, et al. Determination of catecholamines in urine using aminophenylboronic acid functionalized magnetic nanoparticles extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection [J]. *Journal of Separation Science*, 2015, 38(3): 460-467.
 - [49] XU X, GAO J X, CAO D, et al. Designed 3D N-doped

- magnetic porous carbon spheres for sensitive monitoring of biogenic amine by simultaneous microwave-assisted derivatization and magnetic-solid phase extraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2022, 1667: 462882.
- [50] 张颖, 张蕴, 赵永纲. 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定红酒中 14 种生物胺及其代谢产物[J]. *中国卫生检验杂志*, 2022, 32(9): 1025-1029.
- [51] WANG Y P, WU S P, WU D, et al. Amino bearing core-shell structured magnetic covalent organic framework nanospheres: Preparation, postsynthetic modification with phenylboronic acid and enrichment of monoamine neurotransmitters in human urine[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1093: 61-74.
- [52] LULIŃSKI P, JANCZURA M, SOBIECH M, et al. Magnetic molecularly imprinted nano-conjugates for effective extraction of food components-a model study of tyramine determination in craft beers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9560.
- [53] ZENG H Y, ZHANG X Q, ZHEN Q N, et al. Dual-template magnetic molecularly imprinted polymer for simultaneous determination of spot urine metanephrines and 3-methoxytyramine for the diagnosis of pheochromocytomas and paragangliomas[J]. *Molecules*, 2022, 27(11): 3520.
- [54] DANIEL D, DOS SANTOS V B, VIDAL D T R, et al. Determination of biogenic amines in beer and wine by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1416: 121-128.
- [55] ROMANO A, KLEBANOWSKI H, LA GUERCHE S, et al. Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1392-1396.
- [56] GONG X, QI N L, WANG X X, et al. Ultra-performance convergence chromatography (UPC2) method for the analysis of biogenic amines in fermented foods[J]. *Food Chemistry*, 2014, 162: 172-175.

Research Progress of Rapid Accurate Detection Methods of Biogenic Amines

CHEN Haixin¹, KONG Xiangyuan², KONG Lingcan^{1,3*}

(1. *School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China;*

2. *Qufu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qufu 273100, China;*

3. *The Affiliated Wuxi Center for Disease Control and Prevention of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China)*

Abstract: The traditional quantitative assay methods of biogenic amines suffer from many pretreatment issues such as long assay time, low extraction efficiency and large solvent depletion. To address these issues, the rapid, accurate and green pretreatment technologies (such as dispersed liquid-liquid microextraction, solid-phase microextraction, and dispersed solid-phase extraction), the subsequent detection methods and their research progress in the past decades were reviewed, and the outlooks on the application prospects of these technologies and methods were also presented (56 ref. cited).

Keywords: biogenic amine; rapid accurate pretreatment; detection; review