

超声波辅助提取-高效液相色谱法 分析干酪中 9 种生物胺

张 慧¹, 王 瑾², 唐纱丽², 肖功年¹, 曹 慧²

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 浙江省产品质量安全科学研究院, 杭州 310018)

摘 要:【目的】建立超声波辅助提取-高效液相色谱法检测干酪中 9 种生物胺的测定方法。【方法】首先样品经超声波辅助溶剂提取, 滤液经柱前衍生, 高效液相色谱分离和测定, 外标法定量; 然后选择提取溶剂的种类, 研究不同超声时间和温度对回收率的影响, 并进行方法学验证。【结果】以质量分数为 5% 的三氯乙酸溶液 30 °C 超声波提取 15 min, 连续提取 2 次, 滤液合并后经丹磺酰氯衍生, 液相色谱测定; 9 种生物胺衍生物在各自的线性范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.99, 回收率为 76.3%~90.1%, 相对标准偏差为 1.09%~7.45%, 检出限为 0.38 mg/kg, 定量限为 1.25 mg/kg。将本研究提出的方法用于天然干酪样品的检测, 不同样品间生物胺种类和含量差异较大, 总含量为 2.44~78.1 mg/kg。【结论】本研究提出的方法适用于干酪中 9 种生物胺的定量检测, 可为生物胺形成机制和食品安全评价研究提供技术支持。

关键词: 高效液相色谱; 超声提取; 干酪; 生物胺; 测定

中图分类号: TS252.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-8798(2023)06-0534-08

Ultrasonic assisted extraction coupled high-performance liquid chromatography for analysis of 9 kinds of biogenic amines in cheese

ZHANG Hui¹, WANG Jin², TANG Shali², XIAO Gongnian¹, CAO Hui²

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Institute of Product Quality and Safety Science, Hangzhou 310018, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] An analytical method was established for determination of 9 kinds of biogenic amines in cheeses with ultrasonic-assisted extraction coupled high-performance liquid chromatography. [Method] First, biogenic amines in cheese samples were extracted by ultrasonic-assisted solvent, and the filtrate was derived, separated and determined with high-performance liquid chromatography (HPLC), and quantified by external standard method;

收稿日期: 2022-12-05

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LGN20C200011); 杭州市农业与社会发展重点研发项目 (亚运) (20230701A04)

通信作者: 张 慧 (1972—), 女, 新疆维吾尔自治区奎屯人, 正高级工程师, 博士, 主要从事食品质量与安全研究。
E-mail: zhanghui0461@163.com。

then, the kinds of extraction solvent were selected to probe into the influences of different ultrasonic time and temperature on the recovery rate, and verify the methodology. [Result] 9 kinds of biogenic amines are extracted twice by ultrasound at 30 °C for 15 min with 5% trichloroacetic acid solution, and the filtrate is derived by dansulfonyl chloride, determined by HPLC; the linear relationship turns out to be sound in their respective linear ranges, with the correlation coefficients greater than 0.99, the recovery rates 76.3% ~ 90.1% and relative standard deviations at three spiked levels 1.09% ~ 7.45%, the limits of detection 0.38 mg/kg and the limits of quantification 1.25 mg/kg. The method is proposed for the determination of cheese samples, whose types and contents of biogenic amines vary greatly, with the total biogenic amine content ranging from 2.44 to 78.1 mg/kg. [Conclusion] The method is applicable to the quantitative detection of 9 kinds of biogenic amines in cheese, which can provide technical support for the study of biogenic amine formation mechanism and food safety evaluation.

Keywords: high-performance liquid chromatography (HPLC); ultrasound extraction; cheese; biogenic amines; determination

干酪是乳类在凝乳酶或其他凝乳剂的作用下凝固后排放乳清而得到的固态或半固态食品^[1],它的种类繁多,工艺不尽相同,其加工过程中常有微生物参与将糖类转化成有机酸或由凝乳酶作用使蛋白质凝固^[2]。干酪含有丰富的蛋白质,在成熟过程中在微生物分泌的蛋白酶等作用下,产生大量的氨基酸,一方面形成干酪特有的风味和品质^[3-4],另一方面微生物产生的酶也会对游离氨基酸产生脱羧基作用而生成生物胺^[5]。盐的含量^[6]、pH^[7]、成熟温度和时间^[8]等会影响生物胺的形成。干酪中常见的生物胺有色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、精胺和亚精胺等^[9-11]。生物胺的活性与生物胺的含量关系较大,少量的生物胺具有多种生理活性^[12-14],但摄入过量的外源性生物胺时,有可能产生心悸、头痛、血压变化等不良症状^[15]。

国内外对生物胺的检测方法有高分辨质谱法^[16]、液相色谱-质谱法^[17-18]、液相色谱法^[19-20]、离子色谱法^[21]、气相色谱-质谱法^[22]等,在这些方法中,高效液相色谱法是最稳定、最常用的方法之一。Vieira等^[20]采用0.6 mol/L的高氯酸溶液振荡提取了酸奶中的生物胺,建立了反向高效液相色谱检测酸奶中生物胺的检测方法。刘继超等^[23]采用三氯乙酸溶液振荡提取60 min,连续提取两次,高效液相色谱法测定了乳制品中的生物胺,生物胺的总量范围为10.30~34.00 mg/kg。刘蕾等^[9]将干酪样品用0.1 mol/L的盐酸溶液匀浆提取30 min,重复两次,且经过pH调整、正丁醇-三氯甲烷溶液反复提取和盐析等净化程序,采用高效液相色谱法分析了传统干酪中的8种生物胺含量。当前,乳制品中生物胺的提取方法多采用振荡提取或匀浆提取方式,并经过有机溶剂反复提取、盐析等复杂的净化过程再衍生化处理,前处理时间较长,操作繁琐。干酪在加工成熟过程中易形成生物胺且基质复杂,有必要进一步研究适合干酪中生物胺的提取溶剂、提取方式和快速检测方法。

本研究建立了超声波辅助提取-高效液相色谱法同时检测干酪中9种生物胺的测定方法,优化生物胺提取溶剂和超声波提取条件,可以提高样品的提取效率,同时简化样品净化过程,缩短前处理时间;并将其应用于市售干酪样品的测定分析。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

标准品:2-苯乙胺(Phenylethylamine, Phe)、腐胺(Putrescine, Put)、尸胺(Cadaverine, Cad)、组胺(Histamine, His)、酪胺(Tyramine, Tyr)和亚精胺(Spermidine, Spd),纯度均大于99%,北京曼哈格生物科技有限公司;章鱼胺(Octopamine, Oct)、色胺(Tryptamine, Try)和精胺(Spermine, Spm),纯度均大于

98%,北京曼哈格生物科技有限公司;丹磺酰氯(Dansyl chloride),上海安谱实验科技股份有限公司。

试剂:乙腈、正己烷,均为色谱纯,德国 Merck 公司;盐酸、三氯乙酸、乙醚、丙酮、乙酸、乙酸铵、氢氧化钠,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

沃特世 Acquity Arc 高效液相色谱仪,紫外检测器 2998,美国沃特世公司;FA2004 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器;Milli-Q 超纯水仪,美国密理博公司;VORTEX2 旋涡混合器,德国艾卡公司;2-16P 离心机,德国西格玛公司;DS-8510DTH 超声波清洗器,上海生析超声仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 仪器条件

采用沃特世 C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)分离,紫外检测波长 254 nm,流动相 A 为 10% 乙酸铵(0.01 mol/L,含 1% 乙酸)/90% 乙腈,B 为 90% 乙酸铵(0.01 mol/L,含 1% 乙酸)/10% 乙腈;进样量为 20.0 μL;柱温为 35 °C;流速为 0.8 mL/min。流动相洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution program of mobile phase

时间/min	流动相体积分数/%	
	A	B
0	60	40
22	85	15
25	100	0
32	100	0
32.01	60	40
35	60	40

1.3.2 溶液的配制

标准储备液的配制:以 0.1 mol/L 的盐酸溶液为溶剂配制质量浓度为 1 mg/mL 的单标储备液。

混合标准使用液的配制:准确吸取单标储备液 1.0 mL 至同一 10 mL 容量瓶中,用 0.1 mol/L 的盐酸溶液定容,配制成质量浓度为 100 mg/L 的混合标准溶液,冰箱 4 °C 保存。

标准系列溶液的配制:吸取混合标准溶液,以 0.1 mol/L 的盐酸配制成 0.5~50.0 mg/L 系列标准工作液。

丹磺酰氯衍生化溶液配制:准确称取丹磺酰氯,以丙酮为溶剂配制成质量浓度为 10 mg/L 的标准使用液,冰箱 4 °C 保存。

1.3.3 标准品的衍生

分别吸取 1 mL 生物胺系列标准溶液于 10 mL 具塞试管中,依次加入饱和碳酸氢钠 1 mL,氢氧化钠溶液(1 mol/L)100 μL,衍生化试剂 1 mL,涡旋振荡,恒温箱中 60 °C 反应 15 min 后取出。加入谷氨酸钠 100 μL,60 °C 继续反应 15 min 后取出,加入 1 mL 纯水混匀,40 °C 氮吹除去丙酮,5 mL 乙醚涡旋提取,吸出上层乙醚层,再提取一次,合并提取液,40 °C 氮吹仪吹干,1 mL 乙腈溶解,0.22 μm 滤膜过滤后待测。

1.3.4 提取溶剂的选择

以干酪样品作为基质添加混合标准溶液,分别采用 0.1 mol/L 的盐酸溶液、质量分数为 5% 三氯乙酸溶液作为提取溶剂,超声波提取 30 min,进行提取溶剂选择。

1.3.5 超声时间、温度的选择

以干酪样品为基质添加混合标准溶液,在功率为 500 W、温度为 30 °C 时分别超声 5、10、15、30 min,进行超声时间选择研究;选择合适的超声时间,40 °C 超声波提取,进行超声温度选择。

1.3.6 样品提取和衍生

将适量干酪样品研磨均匀,准确称取 5 g 于 50 mL 具塞离心管中,加入 12.5 mL 质量分数为 5% 的三氯乙酸溶液涡旋振荡 2 min,30 °C 超声波提取 15 min,8 000 r/min 离心 5 min,转移上清液至另一离心管中,连续提取两次,合并上清液,滤纸过滤。移取上述滤液 5 mL 于 15 mL 离心管中,加入等体积正己烷,涡旋振荡 2 min;静置分层,弃去上层正己烷层,下层样液待衍生。

取待衍生试液 1 mL,按照 1.3.3 节中衍生化步骤进行衍生。

1.3.7 方法学验证

在干酪样品基质中分别添加低、中、高三个不同水平的混标溶液,按照 1.3.6 节方法提取,以及 1.3.3

节的方法衍生;同时做空白对照试验,考察加标回收率和相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 标准样品图谱

按照 1.3.1 节的色谱条件,试剂的空白色谱图见图 1,图中显示试剂空白在 29 min 左右有一个明显的杂质峰。9 种生物胺经丹磺酰氯衍生化后色谱峰在 35 min 内完全分离,如图 2 所示,出峰顺序依次为色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、章鱼胺、酪胺、亚精胺和精胺,各生物胺质量浓度均为 25 mg/L,分离效果较好。

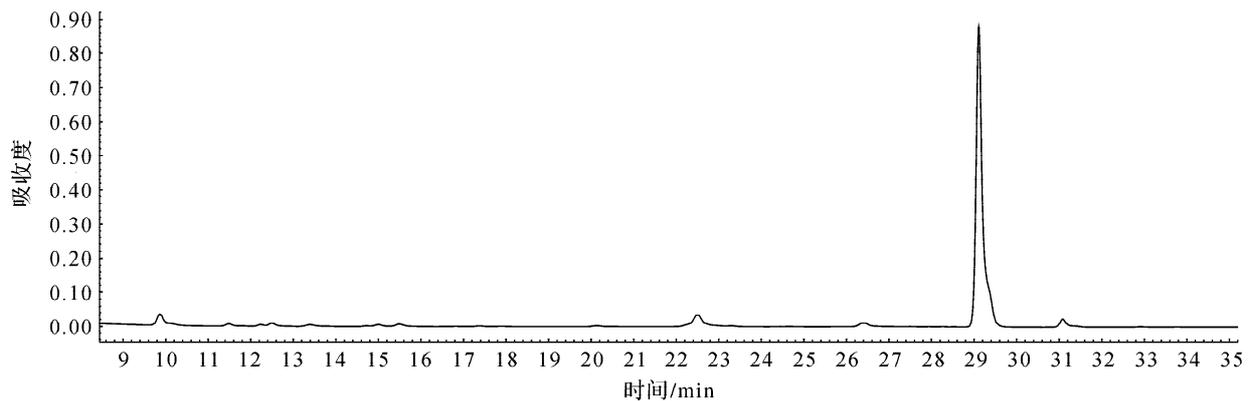
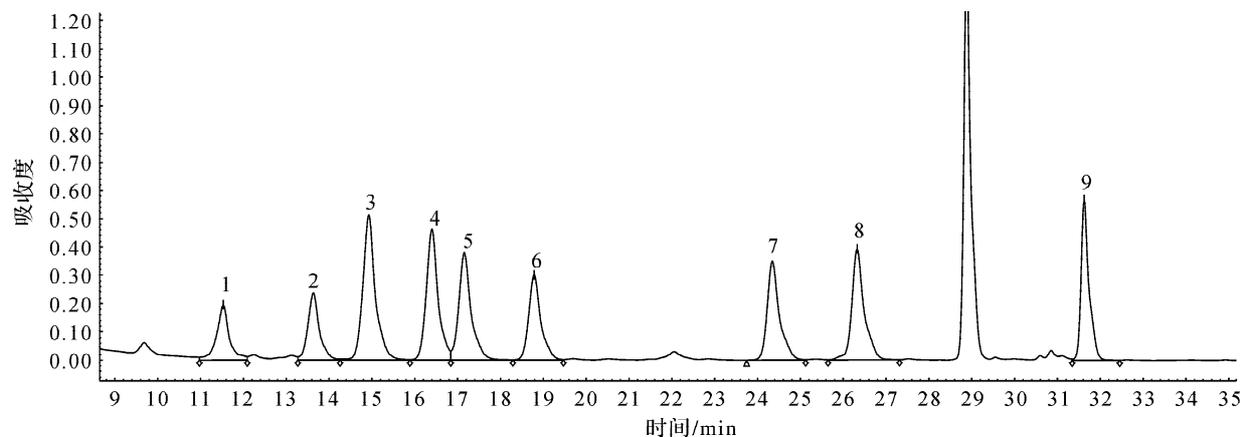


图 1 试剂的空白色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reagent blank



1—色胺;2—苯乙胺;3—腐胺;4—尸胺;5—组胺;6—章鱼胺;7—酪胺;8—亚精胺;9—精胺。

图 2 9 种生物胺色谱图

Fig. 2 Chromatograms of 9 kinds of biogenic amines

2.2 提取溶剂的选择

食品中生物胺的提取溶剂常用的有盐酸^[9]、三氯乙酸^[23]、高氯酸^[24]等,本试验采用 0.1 mol/L 的盐酸溶液和质量分数为 5% 的三氯乙酸溶液提取干酪中的生物胺。结果表明,盐酸溶液和三氯乙酸均可沉淀蛋白质,但是经过超声波处理以后,样品的盐酸提取液变得较为混浊,离心后溶液仍然混浊且难以过滤,提取液损失较大;而三氯乙酸超声波提取液离心后溶液较清,易于过滤。因此,选择质量分数为 5% 的三氯乙酸溶液作为干酪提取溶剂。

2.3 超声时间的选择

超声波提取是利用超声波形成的能量声场对溶液进行声空化作用来提取目标物质。郭慧^[25]采用功率为 50 W 的超声波处理生物胺混标 60 min,发现超声波对生物胺没有破坏作用。本试验考察了在温度为 30 °C 时超声时间对不同生物胺回收率的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可知,色胺在 5~10 min 内随

着超声时间的延长回收率逐渐升高,超声 10 min 时回收率最高,之后有所下降;其余 8 种生物胺在 5~15 min 时间内,随着超声时间的延长回收率逐渐增大;所有生物胺在超声 15、30 min 时,回收率变化趋于平缓,均达到 80%左右及以上。综合考虑,选择 15 min 的超声时间作为以后生物胺的提取时间。

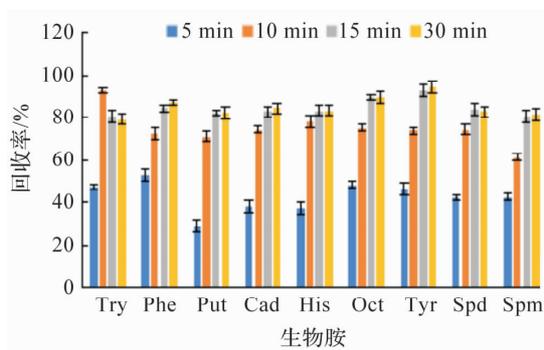


图 3 超声时间对生物胺回收率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic time on recovery rates of biogenic amines

2.4 超声温度的影响

超声温度对提取也会有一定的影响。郭慧^[25]优化了水产品中生物胺的超声波提取条件,超声温度 50 °C、超声时间 25 min 为最优组合。本试验采用 15 min 的超声时间,考察了 30、40 °C 超声温度对干酪生物胺回收率的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可知,30 °C 时 9 种生物胺的回收率在 80%~100% 之间,40 °C 时回收率较 30 °C 时稍有降低。因此,选择回收率较高、处理温度相对温和的 30 °C 作为生物胺超声波提取时的温度。

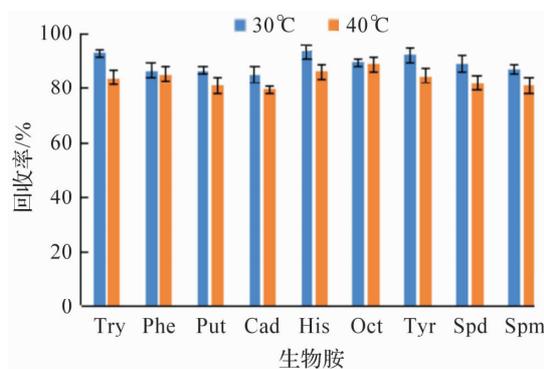


图 4 超声温度对生物胺回收率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic temperature on recovery rates of biogenic amines

2.5 线性方程、检出限和定量限

分别配制质量浓度为 0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0 mg/L 系列标准混合溶液,以标准品峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。生物胺的线性方程、检出限和定量限见表 2。由表 2 可知,7 种生物胺(Try、Phe、Put、Cad、His、Oct、Tyr)在 0.25~50 mg/L 范围内线性关系良好,线性相关系数均在 0.996~0.999 之间;2 种生物胺(Spd、Spm)在 0.25~25 mg/L 范围内线性关系良好,线性相关系数分别为 0.993 和 0.995。9 种生物胺检出限为 0.38 mg/kg,定量限为 1.25 mg/kg。

表 2 生物胺的线性方程、检出限和定量限

Table 2 Linear equation, LODs and LOQs of biogenic amines

生物胺	线性范围/ (mg · mL ⁻¹)	线性方程	线性 相关系数	检出限/ (mg · kg ⁻¹)	定量限/ (mg · kg ⁻¹)
色胺	0.25~50	$Y=1.53 \times 10^5 x + 2.50 \times 10^4$	0.999	0.38	1.25
苯乙胺	0.25~50	$Y=1.95 \times 10^5 x - 1.04 \times 10^5$	0.999	0.38	1.25
腐胺	0.25~50	$Y=3.71 \times 10^5 x + 6.55 \times 10^5$	0.996	0.38	1.25
尸胺	0.25~50	$Y=3.45 \times 10^5 x + 2.46 \times 10^5$	0.998	0.38	1.25
组胺	0.25~50	$Y=3.30 \times 10^5 x + 1.15 \times 10^5$	0.999	0.38	1.25
章鱼胺	0.25~50	$Y=2.64 \times 10^5 x - 7.84 \times 10^4$	0.999	0.38	1.25
酪胺	0.25~50	$Y=3.10 \times 10^5 x - 4.30 \times 10^4$	0.999	0.38	1.25
亚精胺	0.25~25	$Y=3.04 \times 10^5 x + 1.81 \times 10^5$	0.993	0.38	1.25
精胺	0.25~25	$Y=2.54 \times 10^5 x + 1.37 \times 10^5$	0.995	0.38	1.25

2.6 加标回收与相对标准偏差

在干酪基质中分别添加低、中、高三个水平的混合标准溶液,选择优化的条件即质量分数为5%的三氯乙酸溶液提取、超声时间为15 min、超声温度为30 ℃,进行加标回收试验,生物胺的回收率与相对标准偏差见表3。由表3可知,9种生物胺的平均回收率为76.3%~90.1%($n=3$),相对标准偏差为1.09%~7.45%($n=3$),这说明本研究提出的方法的重复性和精密度良好,适用于干酪中9种生物胺的测定分析。

表3 生物胺的回收率与相对标准偏差

Table 3 Recovery rates and RSD of biogenic amines

生物胺	加标量/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	相对标准 偏差/%	生物胺	加标量/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	相对标准 偏差/%
色胺	25	81.3	3.21	章鱼胺	25	87.7	4.66
	50	86.5	1.52		50	80.5	3.13
	100	85.2	5.36		100	87.6	5.18
苯乙胺	25	86.4	2.65	酪胺	25	82.8	4.05
	50	83.9	1.09		50	85.1	2.29
	100	87.4	3.65		100	80.4	3.45
腐胺	25	77.8	5.42	亚精胺	25	76.5	4.99
	50	79.5	6.81		50	81.8	3.27
	100	82.8	3.85		100	82.1	4.94
尸胺	25	78.4	4.22	精胺	25	76.3	5.57
	50	88.6	3.25		50	81.7	4.12
	100	80.3	3.94		100	78.6	6.58
组胺	25	81.5	2.88				
	50	90.1	6.47				
	100	84.5	7.45				

2.7 实际样品的测定

将本研究建立的生物胺测定方法用于市售天然干酪样品的检测,干酪样品中生物胺含量测定见表4。由表4可知,7个样品中均检测出不同含量的生物胺,生物胺总含量范围为2.44~78.1 mg/kg,各类生物胺的含量为未检出至55.4 mg/kg,不同样品间生物胺种类和含量均有较大的差异。在这些样品中共检测出7种生物胺,腐胺在所有样品中均被检出,含量范围为1.28~7.51 mg/kg。于华宁等^[26]在市售的6种Camembert干酪中也均测定出了腐胺。5个样品中检出了组胺,含量为1.85~55.4 mg/kg;4个样品中检出了亚精胺,含量为1.34~2.86 mg/kg;分别有3个样品中检出尸胺和酪胺,各有1个样品检出苯乙胺和精胺,所有样品均未检出色胺和章鱼胺。所测9种生物胺中,含量最高的为样品2中的组胺55.4 mg/kg,其次为酪胺10.2 mg/kg。干酪中生物胺的产生和含量受微生物、环境因素、贮存时间、干酪种类等多方面因素的影响,其中能够产氨基酸脱羧酶的微生物是最重要的因素,如乳酸链球菌可将组氨酸转化成组胺,瑞士乳杆菌具有形成酪胺的性能等^[27];腐胺则主要由于受精氨酸的脱羧和转氨基的作用形成鸟氨酸,鸟氨酸再经脱羧作用形成腐胺^[28],一些发酵剂或非发酵剂的菌株都可能促使腐胺的生成。当前,欧盟推荐食品中组胺含量不得超过100 mg/kg,酪胺不得超过100~800 mg/kg^[29],本试验所测的这几种生物胺含量均远低于推荐限量值。

表4 干酪样品中生物胺含量测定

Table 4 Determination of biogenic amines in cheese samples

(mg/kg)

生物胺	样1	样2	样3	样4	样5	样6	样7
色胺	未检出						
苯乙胺	未检出	未检出	6.23±0.26	未检出	未检出	未检出	未检出
腐胺	2.44±0.12	7.51±0.05	1.28±0.14	3.28±0.08	2.67±0.23	2.02±0.19	1.67±0.32
尸胺	未检出	2.16±0.23	未检出	2.04±0.21	未检出	未检出	1.43±0.16

表 4(续)

生物胺	样 1	样 2	样 3	样 4	样 5	样 6	样 7
组胺	未检出	55.4±0.34	1.85±0.09	27.2±0.11	2.32±0.35	未检出	14.4±0.23
章鱼胺	未检出						
酪胺	未检出	10.2±0.19	未检出	未检出	5.07±0.46	1.48±0.16	未检出
亚精胺	未检出	2.86±0.07	1.79±0.35	2.62±0.42	2.71±0.19	1.34±0.09	2.14±0.07
精胺	未检出	未检出	未检出	1.32±0.04	未检出	未检出	未检出
总量	2.44±0.12	78.1±0.18	11.2±0.21	36.5±0.17	12.8±0.31	4.84±0.15	19.6±0.24

3 结 语

本研究建立了基于超声波辅助提取干酪中 9 种生物胺的高效液相色谱快速检测方法。生物胺在各自线性范围内线性关系良好,方法回收率高,精密度和重现性好。将本研究提出的方法用于市售干酪样品分析,不同样品间生物胺种类和含量差异较大,需持续关注。本研究提出的方法简化了乳制品中生物胺的提取和净化流程,提高了分析效率,适合干酪中多种生物胺的快速检测,可为深入研究乳制品中生物胺形成机制和安全评价提供技术手段。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准干酪:GB 5420—2021[S]. 北京:中国标准出版社,2021:1.
- [2] 韦剑思,林莹,韦剑欢,等. 国内发酵奶酪制品工艺的研究进展[J]. 广西农学报,2021,36(3):67.
- [3] 赵悦,李玲玉,闫清泉,等. 促进干酪快速成熟方法的研究进展[J]. 食品工业,2022,43(2):210.
- [4] 王超,高磊,赵子健,等. 益生菌附属发酵剂对切达干酪质构、游离氨基酸和短链脂肪酸的影响[J]. 食品与发酵工业,2022,48(8):136.
- [5] SILIA S M H. Biogenic amines: their importance in foods[J]. International Journal of Food Microbiology,1996,2977(2/3):213.
- [6] 宋国顺,张炎,袁润泽,等. 不同 NaCl 添加量对牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺产生的影响[J]. 食品科学,2022,43(22):34.
- [7] 宋雪梅,宋国顺,梁琪,等. 发酵剂对牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺的影响[J]. 食品与发酵工业,2022,48(2):116.
- [8] 刘景,刘振民. 成熟过程对红曲霉干酪中生物胺的影响及其安全性评估[J]. 乳业科学与技术,2021,44(2):1.
- [9] 刘蕾,牛天娇,陈历水,等. 我国传统干酪中生物胺含量检测分析[J]. 中国酿造,2018,37(2):164.
- [10] 宋雪梅,宋国顺,梁琪,等. 牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺与细菌群落结构分析[J]. 食品科学,2021,42(23):27.
- [11] 袁润,泽梁琪,宋雪梅. 原料乳热处理对牦牛乳硬质干酪中生物胺含量的影响[J]. 食品与发酵科技,2022,58(5):1.
- [12] SHALABY A R. Significance of biogenic amines to food safety and human health[J]. Food Research International,1996,29(7):675.
- [13] FALUS A, GILICZE A. Tumor formation and antitumor immunity: the overlooked significance of histamine[J]. Journal of Leukocyte Biology,2014,96(2):225.
- [14] YANAI K, TASHIRO M. The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: an insight from human positron emission tomography studies[J]. Pharmacology and Therapeutics,2007,113(1):1.
- [15] ANLI R E, VURAL N, YILMAZ S, et al. The determination of biogenic amines in Turkish red wines[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2004,17(1):56.
- [16] 丁涛,吕辰,柳菡,等. 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱检测葡萄酒中 8 种生物胺[J]. 分析测试学报,2014,33(1):27.
- [17] HUANG Y K, SONG Y N, CHEN F, et al. Simultaneous determination of eight biogenic amines in the traditional Chinese condiment PixianDouban using UHPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry,2021,353:129423.
- [18] LEE S H, YOO M Y, SHIN D B. The identification and quantification of biogenic amines in Korean turbid rice

- wine, Makgeolli by HPLC with mass spectrometry detection[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 62(1): 350.
- [19] MAYER H K, GREGOR F. UHPLC analysis of biogenic amines in different cheese varieties[J]. *Food Control*, 2018, 93:9.
- [20] VIEIRA C P, COSTA M P, SILVA V L M, et al. Development and validation of RP-HPLC-DAD method for biogenic amines determination in probiotic yogurts[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, 13, 1584.
- [21] MICHAJSKI R, PECYNA-UTYLSKA P, KERNERT J. Determination of ammonium and biogenic amines by ion chromatography A review[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1651:462319.
- [22] FABJANOWICZ M, ROZANSKA A, KALINOWSKA K, et al. Miniaturized, green salting-out liquid-liquid microextraction coupled with GC-MS used to evaluate biogenic amines in wine samples[J]. *Microchemical Journal*, 2022, 180:107616.
- [23] 刘继超,陈历俊,刘硕,等. 高效液相色谱法测定不同乳制品中生物胺含量的研究[J]. *中国乳品工业*, 2018, 46(5): 44.
- [24] 林瑶. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中5种生物胺的方法建立[J]. *预防医学论坛*, 2022, 28(11):834.
- [25] 郭慧. 不同贮藏温度条件下海洋鱼类生物胺变化规律研究及特征生物胺分析[D]. 杭州:浙江大学, 2015.
- [26] 于华宁,吴申懋,杭锋,等. 市售进口 Camembert 干酪的蛋白质水解程度和生物胺水平对比研究[J]. *乳业科学与技术*, 2017, 40(6):4.
- [27] 田伟丰,孟甜,丁俊荣,等. 蔬菜发酵剂乳酸菌产生物胺的检测与评价[J]. *食品科学*, 2010, 31(24):243.
- [28] ARENA M E, MANCA DE NADRA M C. Biogenic amine production by *Lactobacillus*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 90(2):160.
- [29] European Commission. Commission recommendation of 10 January 2003 concerning a coordinated programme for the official control of foodstuffs for 2003[EB/OL]. (2003-11-01)[2022-10-05]. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:007:0076:0081:EN:PDF>.