

ICS 67.050
B20

团 体 标 准

T/ NAIA XXX—2025

畜禽肉中 9 种生物胺含量的测定 液相色谱法

Determination of Nine Biogenic Amines in Livestock and Poultry Meat by
HPLC

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 发 布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》规定编写。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监督管理总局重点实验室（枸杞及葡萄酒质量安全））、宁夏回族自治区畜牧工作站、宁夏回族自治区兽药饲料检查研究所、宁夏职业技术学院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：张瑶、郭阳、王泽岚、蒋秋斐、艾琦、卜宁霞、高琳、刘迎、李强、顾亚荣、吴明、吕毅、马桂娟、张小飞。

本文件于 2025 年 XX 月 XX 日首次发布。

畜禽肉中 9 种生物胺含量的测定 液相色谱法

1 范围

本文件规定了畜禽肉中 9 种生物胺含量的测定（色胺、 β -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、章鱼胺、酪胺、精胺、亚精胺）的液相色谱法。

本文件适用畜禽肉中 9 种生物胺含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样用 5%三氯乙酸提取，正己烷除脂，经丹磺酰氯衍生，反相色谱柱分离，供液相色谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 盐酸：37%。

5.1.2 丙酮：优级纯。

5.1.3 丹磺酰氯（Dans-Cl）：优级纯。

5.1.4 碳酸氢钠：优级纯。

5.1.5 氨水：优级纯。

5.1.6 三氯乙酸：优级纯。

5.1.7 甲醇：色谱纯。

5.1.8 正己烷：色谱纯。

5.1.9 0.1mol/L 盐酸溶液：取盐酸（5.1.1）0.83mL，用水稀释定容到 100mL，混匀。

5.1.10 Dans-Cl 衍生溶液：准确称取丹磺酰氯（5.1.3）0.5g，以丙酮（5.1.2）为溶剂，定容至 100mL 容量瓶，配制成浓度为 5g/L 的衍生剂使用液，置 4℃冰箱避光保存。

5.1.11 20g/L 碳酸氢钠溶液：准确称取 2.0g 碳酸氢钠（5.1.4），加水溶解并定容至 100mL 容量瓶，混匀。

5.1.12 5%三氯乙酸：准确称取 25g 三氯乙酸（5.1.6）于 250mL 烧杯中，用适量水完全溶解后转移至 500mL 容量瓶中，定容至刻度。

5.2 标准品

9 种生物胺标准品名称、化学分子式和 CAS 号见附表 A。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液 (10.0mg/mL)：分别准确称取9种生物胺标准物质适量，用0.1mol/L盐酸溶液(5.1.9)溶解并定容至10.0mL容量瓶中，避光冷冻贮存，保存期限为3个月。

5.3.2 混合标准储备液 (1.0mg/mL)：分别移取9种生物胺标准储备液1.0mL，混合后用0.1mol/L盐酸溶液定容至10.0mL容量瓶中，避光冷冻贮存，保存期限为1个月。

5.3.3 混合标准工作溶液：分别准确吸取不同体积混合标准储备液，用0.1mol/L盐酸溶液定容至10.0mL，配制成浓度为1.0~200.0mg/L的标准工作溶液，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 天平：感量 0.00001g 和 0.01g。

6.3 均质机。

6.4 涡旋混合器。

6.5 高速离心机：最大转速 9000r/min。

6.6 水浴装置。

6.7 滤膜针头滤器，孔径 0.22μm，或相当者。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取适量新鲜或冷冻的供试组织绞碎，并使均质，-18℃以下保存。

7.2 试液的提取与净化

7.2.1 试液的提取

称取 5.0g 样品于 50mL 具塞离心管中，加入 5%三氯乙酸（5.1.12）20mL，涡旋振荡提取 30min，转移至 50mL 具塞离心管中，8000r/min 离心 10min，转移上清液至 50mL 容量瓶中，残渣用 5%三氯乙酸溶液再提取一次，合并上清液，用 5%三氯乙酸稀释至刻度，待净化。

7.2.2 试液的净化

移取上述试样提取液 10.0mL，置 25mL 具塞试管中，加入 10mL 正己烷（5.1.8），涡旋振荡 5min，弃去上层有机相，重复进行 2 次。

7.2.3 试液的衍生

取 1.0mL 上述净化液，加入具塞试管中，再依次加入 0.3mL 20g/L 碳酸氢钠溶液（5.1.11）和 0.5mL 5g/L Dans-Cl 丙酮溶液（5.1.10），涡旋混匀，于 60℃水浴避光孵育 20min，随后加入 0.1mL 浓氨水（5.1.5），继续加热 10min，以去除多余衍生剂，然后添加乙腈将总体积调至 2.5mL，混匀，过 0.22μm 有机滤膜（6.7），滤液供 HPLC 分析。

7.2.4 标液的衍生

分别移取 1.0mL 生物胺标准系列溶液，置于 10mL 具塞试管中，以下操作同试样的衍生步骤。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈，2.1mm×150mm，粒径 3.5μm 或性能相当。
- b) 紫外检测波长：254nm。
- c) 柱温：35℃。
- d) 流动相：A：水，B：甲醇（5.1.7）；梯度洗脱见表 1。
- e) 流速：0.8mL/min。
- f) 进样量：5μL。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/（mL/min）	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.8	45	55
18	0.8	25	75
25	0.8	20	80
35	0.8	10	90
38	0.8	25	75
40	0.8	45	55

7.4 标准曲线的制作

将 5μL 系列混合标准工作液的衍生液分别注入高效液相色谱仪，测得目标化合物的峰面积，以系列混合标准工作液的浓度为横坐标，以目标化合物的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准溶液的色谱图见图 B.1。

7.5 试样溶液的测定

将试样的衍生溶液注入高效液相色谱仪中，测得峰面积，以保留时间定性。根据标准曲线得到待测液中各目标化合物的浓度。

8 分析结果的表述

试样中生物胺含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m}$$

(1)

式中：

X ——试样中各种化合物含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——试样溶液的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

f ——稀释倍数。

计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 其他

当称样量为 5.0g 时，色胺、 β -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、章鱼胺、酪胺、精胺和亚精胺均为 50mg/kg。

附录 A
(资料性附录)

表 A.1 9 种生物胺标准品名称、化学分子式和 CAS 号

序号	名称	化学分子式	CAS 号	纯度
1	组胺	C ₅ H ₉ N ₃	56-92-8	>99%
2	β -苯乙胺	C ₈ H ₁₁ N	64-04-0	>99%
3	酪胺	C ₈ H ₁₁ NO	60-19-5	>98%
4	腐胺	C ₄ H ₁₂ N ₂	333-93-7	>98%
5	尸胺	C ₅ H ₁₄ N ₂	1476-39-7	>99%
6	色胺	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	61-54-1	>99%
7	精胺	C ₁₀ H ₂₆ N ₄	306-67-2	>99%
8	亚精胺	C ₇ H ₁₉ N ₃	334-50-9	>97%
9	章鱼胺	C ₈ H ₁₁ NO ₂	770-05-9	>98%

附录 B
(资料性附录)

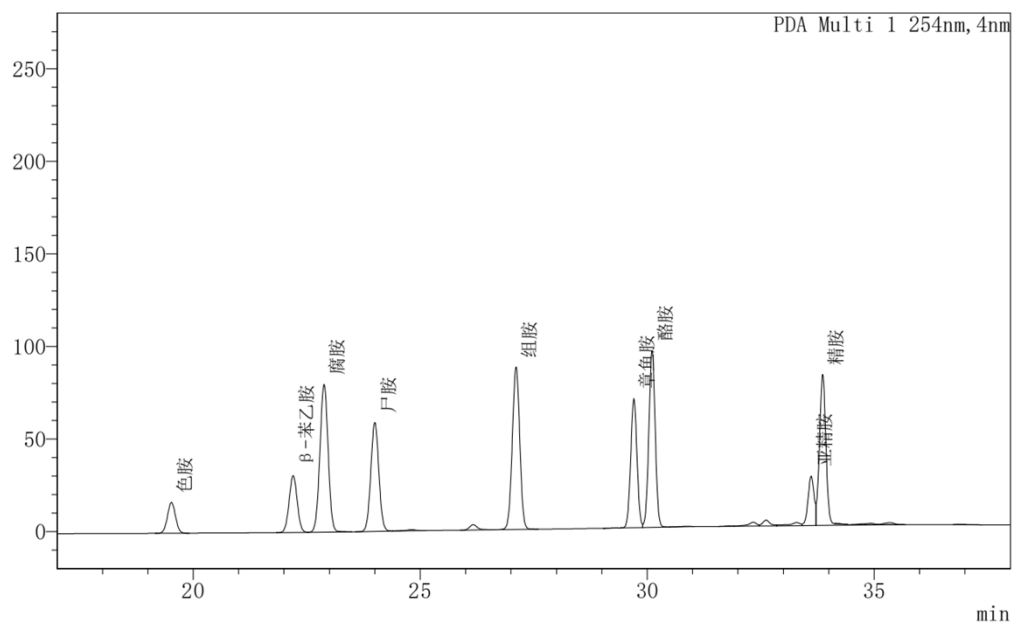


图 B.1 9 种生物胺标准溶液衍生物液相色谱图