

生物质基氮掺杂碳点荧光探针检测酪胺

戴卓凡¹, 张玉华¹, 马元辰¹, 王胜男¹, 张殿伟^{1*}, 王凤寰¹, 刘慧琳²

¹北京工商大学轻工科学与工程学院 北京 100048

²北京工商大学食品与健康学院 北京 100048

摘要 酪胺是一种重要的生物胺,它的存在对食品安全和人体健康有重要影响。以生物质原料为碳源,制备生物质碳点。通过添加尿素进行氮掺杂,提高生物质碳点的量子产率。结合分子印迹技术制备特异性识别酪胺的荧光探针,建立发酵食品中酪胺的荧光快速检测方法。结果表明:在质量浓度 10~200 $\mu\text{g/L}$ 范围,酪胺质量浓度与所制备荧光探针的荧光强度具有良好的线性相关性,线性方程为 $y=0.00192x+1.06263$ ($R^2=0.98485$),检出限可达 5.48 $\mu\text{g/L}$ 。同时对酪胺有良好的特异性,不与其他生物胺及其结构类似物发生交叉反应。通过对腊肉、酸奶、豆腐乳等发酵食品样品进行加标回收试验,得到加标回收率为 111.06%~122.03%,相对标准偏差均低于 6.09%,该结果与高效液相色谱方法一致。本方法快速、灵敏、准确度高,可用于发酵食品中酪胺的检测。

关键词 酪胺; 生物质碳点; 发酵食品; 荧光探针; 分子印迹聚合物

文章编号 1009-7848(2025)02-0441-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.02.039

发酵食品作为我国食品工业产品中重要的一类食品,在全国具有广阔的消费市场,发酵食品因独特的风味及丰富的游离氨基酸而受到广大消费者的追捧,然而其丰富的游离氨基酸在发酵和贮藏过程中可能在微生物产生的氨基酸脱羧酶的作用下导致生物胺的积累^[1]。生物胺对于动、植物以及微生物的活性细胞都有着非常重要的生理作用,高浓度的生物胺会引起一系列不良的生理反应,严重时甚至会产生休克等严重危害^[2]。酪胺是生物胺中的一种单胺,是由酪氨酸在酪氨酸脱羧酶的脱羧作用下产生,广泛存在于发酵食品中,如肉制品、海产品、乳制品、葡萄酒及啤酒等^[3-4]。摄入过量的酪胺会导致偏头痛、呼吸困难及高血压等中毒反应^[5-6],因此,高效、快速检测发酵食品中的酪胺含量对于改善和提高我国传统发酵食品的安全性具有重要意义。

目前酪胺的检测方法主要为高效液相色谱法、气相色谱法、薄层层析和毛细管电泳法等^[7-8]。虽然这些方法具有极好的检测限和准确性,但是

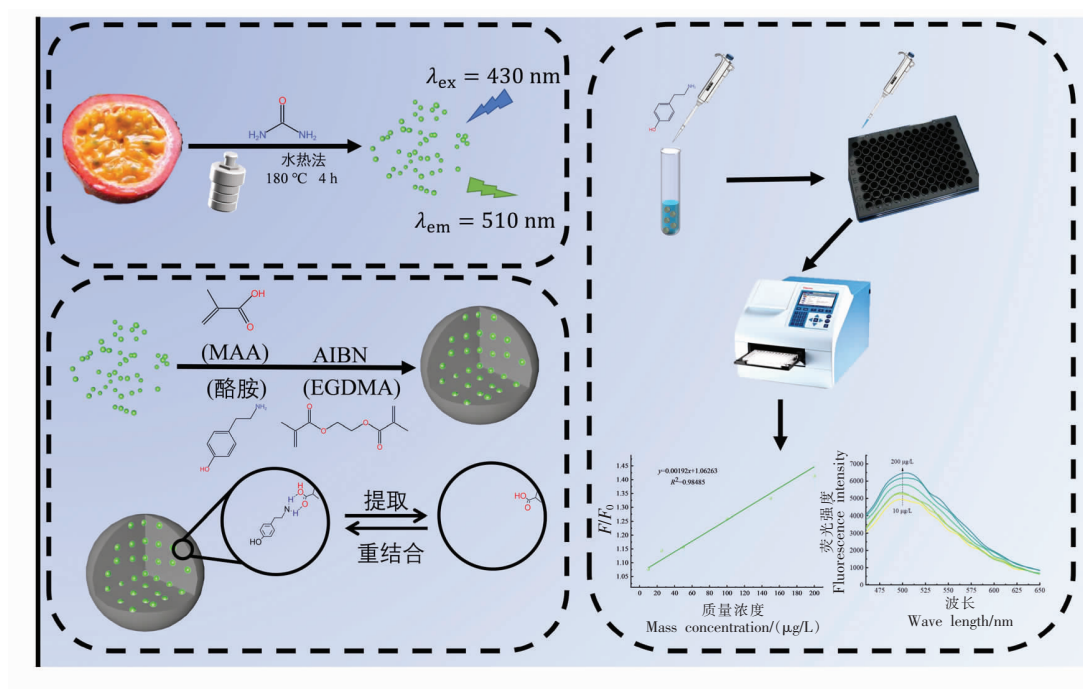
其成本较高、检测工作量大,并需进行样品预处理,无法实现现场实时检测。相比较以上几种方法,荧光传感技术法因具有较高的灵敏度和选择性^[9],操作简便,而更有利于快速检测生物胺的含量^[10]。荧光传感技术通常选用荧光化合物、共价有机骨架材料^[11]、金属有机框架材料^[12]、量子点^[13]和碳点(Carbon dots, CDs)^[14]等材料作为发光中心,其中 CDs 是一种新型的碳基纳米材料,自 2004 年被发现以来逐渐成为研究热点,CDs 通常粒径小于 10 nm,具有优异的荧光性能、稳定性以及水溶性^[15],被广泛应用于发光、传感、成像以及药物递送等方面^[16-17]。随着绿色理念的推行,许多研究以价格低廉的生物质原料为原料或主要原料制备生物质碳点(Biomass-derived carbon dots, BCDs),例如柚子皮、西瓜皮和稻壳等^[18]。BCDs 相比于量子点以及其它 CDs 表现出高生物相容性,同时保留了良好的光学性能以及稳定性等优点。目前也有许多 BCDs 被用于离子、抗生素等物质的传感以及成像等研究^[19-20]。本文以百香果为碳源,尿素为氮源,通过一步水热法合成高量子产率的氮掺杂型生物质碳点(N-BCDs),通过结合分子印迹技术构建一种对酪胺具有高度选择性的荧光探针,从而实现酪胺的快速、灵敏检测(图 1)。

收稿日期: 2024-02-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272413)

第一作者: 戴卓凡,女,本科

通信作者: 张殿伟 E-mail: zhangdianwei@btbu.edu.cn



注: F/F_0 为加入不同质量浓度酪胺后试验组的荧光强度与加入等体积溶剂的荧光强度比值。

图1 N-BCDs 荧光探针检测酪胺示意图

Fig.1 Schematic diagram of N-BCDs fluorescence probe detection for tyramine

1 方法

1.1 仪器与试剂

乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)、甲基丙烯酸(MAA)、偶氮二异丁腈(AIBN)、酪胺、色胺、组胺,上海麦克林生化科技股份有限公司;酪氨酸、色氨酸、组氨酸,北京博奥拓达科技有限公司;其它试剂均购于北京伊诺凯科技有限公司;所有试验用水均为超纯水,产自实验室超纯水仪;百香果、腊肉、酸奶和黄酒购于本地商场。

SYNERGY H1 酶标仪,美国 BioTek 公司;ALPHA I 傅里叶变换红外光谱仪,德国 Bruker 公司;UV-2700i 紫外分光光度计,日本 Shimadzu 公司;MIRA LMS 扫描电镜,捷克 TESCAN 公司;Tecnai G2 F30 透射电镜,美国 FEI 公司;ESCALAB 250XI X 射线光电子能谱,美国 Thermo Scientific 公司;1260 Infinity 高效液相色谱、色谱柱(InfinityLab ZORBAX Eclipse Plus C₁₈) (21.2 mm×250 mm, 5 μm),美国 Agilent 公司。

1.2 方法

1.2.1 氮掺杂型生物质碳点(N-BCDs)的制备 采用一锅水热法合成 N-BCDs,将百香果果肉与 2 倍

质量的超纯水混合,并使用粉碎机粉碎后通过离心去除不溶性大颗粒,上清液通过过滤膜去除不溶性的小颗粒。取上述溶液 30 mL 超纯水与 0.3 g 尿素混合溶解并转移至具有聚四氟乙烯内衬的高压反应釜中,180 °C 反应 4 h。待反应结束冷却至室温后,将深棕色的液体通过过滤膜去除不溶性的小颗粒,得到 N-BCDs 溶液。

1.2.2 N-BCDs 分子印迹聚合物(N-BCDs@MIPs)的制备 N-BCDs 分子印迹聚合物是通过本体聚合法所构建的^[21],合成具体过程如下,首先在 25 mL 圆底烧瓶中加入 1 mL N-BCDs 溶液、0.2 mmol 酪胺、0.6 mmol MAA、4 mL 乙醇,超声使溶液均匀后置于 60 °C 水浴锅振荡预聚合 30 min,再向其中加入 2 mmol EGDMA、30 mg AIBN,超声使溶液均匀后置于 60 °C 水浴锅振荡反应 24 h。待反应结束后,以甲醇作为洗脱剂,通过索氏抽提除去酪胺分子。60 °C 烘干 10 h,研磨过筛。作为对比,非分子印迹聚合物合成和上述一致,过程中不加入酪胺。

1.2.3 N-BCDs@MIPs 对酪胺的荧光检测 向离心管中加入 500 μL 不同质量浓度 (10~200 μg/L)

的酪胺溶液,再加入等体积的 N-BCDs@MIPs 溶液,充分振荡吸附后在激发波长 430 nm 下测量其荧光光谱,空白组荧光强度记为 F_0 ,试验组荧光强度记为 F 。同时将酪氨酸、色胺、色氨酸、组胺和组氨酸作为酪胺的结构类似物对 N-BCDs@MIPs 进行吸附试验以考察 N-BCDs@MIPs 的选择性;此外通过添加 5, 10 倍和 15 倍的结构类似物竞争性干扰 N-BCDs@MIPs 的检测以考察其检测的选择性及抗竞争能力;最后通过添加潜在干扰因子(1 mmol/L)以考察 N-BCDs@MIPs 的抗干扰性。

1.2.4 N-BCDs 材料的稳定性 同时为了验证材料的稳定性,通过抗紫外光漂白能力和时间稳定性评估材料的稳定性,通过将材料置于紫外灯箱中使用 365 nm 紫外灯持续照射 120 min,每隔 20 min 测量一次荧光强度;同时对材料连续 30 d 的荧光强度进行监测,空白组荧光强度记为 F_0 ,试验组荧光强度记为 F 。

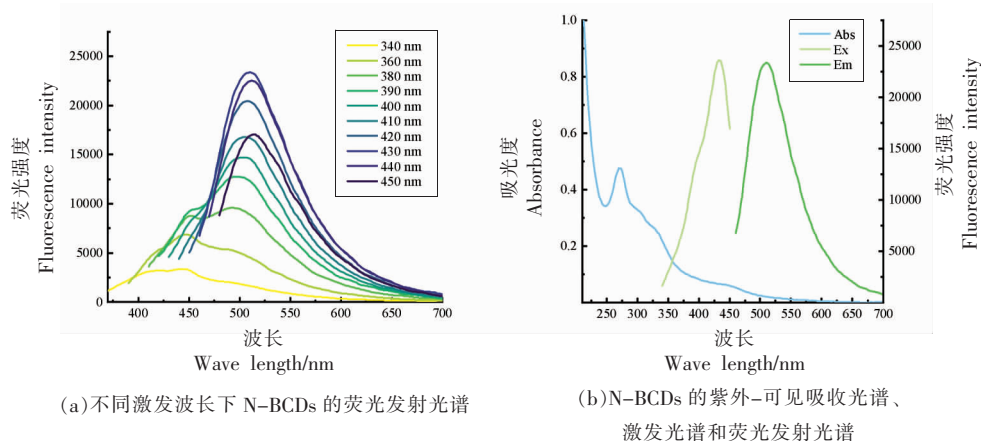
1.2.5 实际样品中酪胺的检测 选取腊肉、火腿、酸奶、腐乳和黄酒作为检测样品以评估 N-BCDs@MIPs 的应用潜力,腊肉与火腿前处理参照闵盛等^[22]的方法做出适当修改进行净化和提取,具体过程为取 10 g 均质混匀的样品并加入 20 mL 50 g/L 三氯乙酸水溶液和 10 mL 正己烷超声处理 30 min,去除上层有机相后通过离心处理收集上清液,低温保存备用;酸奶参照刘继超等^[23]的方法做出适当修改进行净化和提取,具体过程为取 10 g 酸奶并加入 20 mL 50 g/L 三氯乙酸水溶

液超声处理 30 min,离心后将上清液转移至 50 mL 容量瓶,向沉淀中再次加入 20 mL 50 g/L 三氯乙酸水溶液超声处理 30 min,再次离心将上清液转移至 50 mL 容量瓶并使用 50 g/L 三氯乙酸水溶液定容至刻度线处,低温保存待用;腐乳样品处理方法:加入 10 g 均浆的样品,再加入 20 mL 50 g/L 三氯乙酸混匀后超声提取 30 min,每 10 min 振荡混匀一次,8 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 容量瓶中;向沉淀中再次加入 20 mL 50 g/L 三氯乙酸混匀后超声提取 30 min,8 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 容量瓶中,使用 50 g/L 三氯乙酸定容至刻度线处。移取上述溶液 5 mL 至 10 mL 具塞试管中,加入 5 mL 正己烷,涡旋振荡数分钟后,静止分层后弃去上层有机相,下层试样溶液保存待用。黄酒样品没有提取和净化步骤,液相方法参考刘慧琳等^[24]的方法。

2 结果

2.1 N-BCDs 的光学性质

通过荧光光谱和紫外可见吸收光谱对 N-BCDs 的光学性质进行分析。如图 2a 展示了 N-BCDs 在不同激发波长下的荧光发射光谱,当激发波长从 340 nm 增加到 430 nm, N-BCDs 的荧光发射强度逐渐升高,同时发射峰也从 450 nm 红移至 510 nm;当激发波长增大至 450 nm 时, N-BCDs 的荧光发生强度降低,荧光发射峰位置不变,因此 N-BCDs 的最佳激发波长为 430 nm,最佳发射波



(a)不同激发波长下 N-BCDs 的荧光发射光谱

(b)N-BCDs 的紫外-可见吸收光谱、
激发光谱和荧光发射光谱

注: Abs. 吸光度; Ex. 最佳激发波长; Em. 最佳发射波长。

图 2 N-BCDs 光学性质分析

Fig.2 Optical properties analysis of N-BCDs

长为 510 nm,上述现象说明 N-BCDs 具有激发波长依赖性,与大部分生物质碳点类似,可能在水热过程中小分子化合物聚合碳化形成的碳点粒径大小范围较宽导致,以参比法计算出 N-BCDs 的相对量子产率约为 55.81%^[16]。如图 2b 展示了 N-BCDs 的紫外-可见吸收光谱、荧光激发光谱和荧光发射光谱,从紫外-可见吸收光谱可以看出 N-BCDs 具有较宽的吸收范围,在波长 270 nm 具有一个明显的吸收峰和 300 nm 处的肩峰,可能来源于 N-BCDs 表面 C=C 的 $\pi-\pi^*$ 和 C-O、C=O 以及 C-N 基团的 $n-\pi^*$ 跃迁。

2.2 表征

通过透射电镜和扫描电镜对 N-BCDs 和 N-

BCDs@MIPs 的微观结构进行分析,如图 3a 所示, N-BCDs 形似球状,没有明显的聚集,粒径分布较宽,平均粒径约为 2.06 nm(图 3b),这是由于在水热合成过程中有机物发生聚合和碳化程度有差异导致碳点粒径存在不同;而 N-BCDs@MIPs 则为相互黏连的球型纳米颗粒(图 3c、3d),表面呈现粗糙的结构,其整体粒径明显大于 N-BCDs,这说明交联剂 EGDMA 在引发剂的加入后逐渐发生聚合,同时将预聚合所形成的结构一起包裹形成 N-BCDs@MIPs,随后通过索氏抽提的方式洗脱 N-BCDs@MIPs 合成过程中所吸附的酪胺并在其中形成对酪胺具有特异性吸附的三维空间结构。

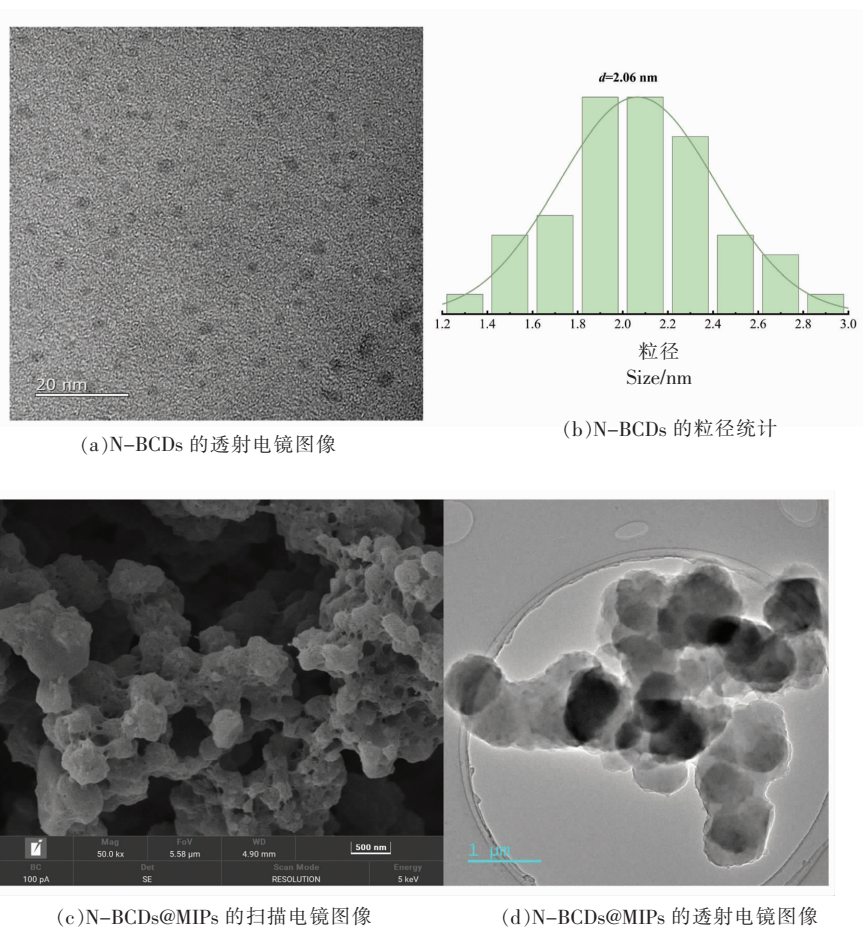


图 3 N-BCDs 和 N-BCDs@MIPs 微观结构分析

Fig.3 Microstructure analysis of N-BCDs and N-BCDs@MIPs

利用 FT-IR 和 XPS 对 N-BCDs 表面基团以及元素组成进行分析,如图 4a 所示,N-BCDs 的 FT-IR 光谱在 3 000~3 200 cm^{-1} 范围的对 N-H/

O-H 的特征吸收峰,2 930,1 656,1 378 cm^{-1} 和 1 038 cm^{-1} 分别对应 C-H、C=O、C-N 和 C-O^[25]。从 N-BCDs@MIPs 和不加入酪胺的对照材料的红外

光谱(图 4b)来看,N-BCDs@MIPs 和不加入酪胺的对照材料的 FT-IR 光谱呈现相同的特征峰,这是由于二者相同的合成过程,FT-IR 光谱中位于 $2\ 970\text{ cm}^{-1}$ 附近的特征峰是来自于 EGDMA 的甲

基和亚甲基, $1\ 720\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 142\text{ cm}^{-1}$ 的特征峰分别对应 C=O 和 C-O^[26],进一步说明了在其合成过程中 EGDMA 和 MAA 发生聚合形成高聚物。

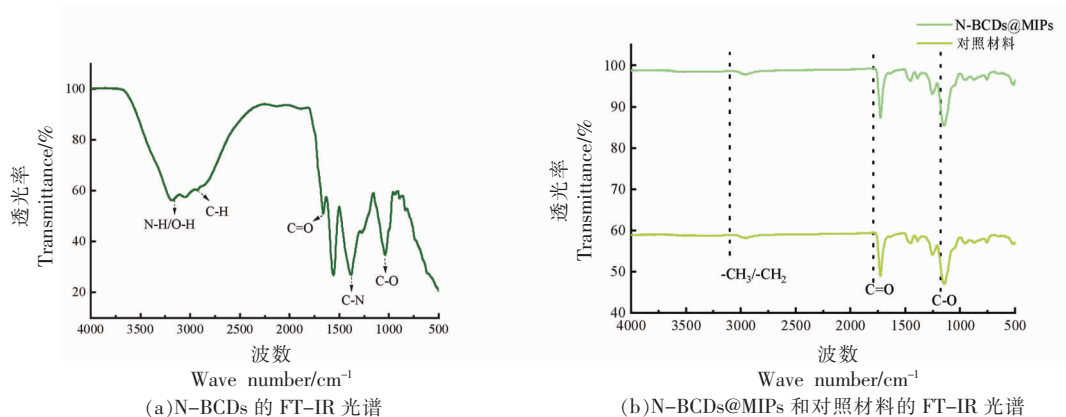


图 4 FT-IR 光谱分析

Fig.4 FT-IR Spectral analysis

如图 5a 所示,N-BCDs 主要含有 C(61.92%)、N(8.75%)和 O(29.33%)3 种元素,由于合成过程中尿素的加入,N-BCDs 中 N 元素的含量有明显的提高。通过拟合在 N-BCDs 的 C_{1s} 谱图(图 5b)展现出 3 个峰,分别对应 C-C (248.4 eV)、C-O (286.2 eV)和 C=O(287.8 eV); N_{1s} 谱图(图 5c)的 3 个峰分别对应 O=C-N (399.05 eV)、C-N(399.93 eV)和 N-H(400.9 eV); O_{1s} 谱图(图 5d)的 3 个峰分别对应的 O=C=O(531.2 eV)、C-O(532.5 eV)和 O-H(533.3 eV)^[27]。FT-IR 与 XPS 的结果显现出相似的官能团信息,N-BCDs 表面富含 N-H、-OH 等亲水性基团和 C=O、C-O 和 O=C-N 等基团,这些基团赋予了 N-BCDs 良好的水溶性,同时 TEM 图像中同样表现出其良好的分散性。

2.3 N-BCDs@MIPs 对酪胺的荧光检测

为了探究 N-BCDs@MIPs 检测酪胺过程中的荧光变化以确定其最佳检测时间,通过监测混合体系的荧光强度变化进而确定最佳吸附时间。如图 6a 所示,荧光响应随着时间增加逐渐增大,20 min 时就达到 90%以上的吸附平衡,在 25 min 左右几乎完成了完全吸附。在 25~60 min 内,整体的荧光响应几乎没有发生变化,因此将后续试验的吸附时间定为 25 min。如图 6b 所示,当酪胺质量浓度在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 范围内,随着酪胺质量浓度的增加,N-BCDs@MIPs 体系荧光强度也逐渐上升,

F/F_0 与酪胺质量浓度呈现出良好的线性关系($R^2=0.98485$),线性方程为 $y=0.00192x+1.06263$ (F 为加入不同浓度酪胺后试验组的荧光强度, F_0 为加入等体积溶剂的荧光强度;方程中 $y=F/F_0$, x 为酪胺质量浓度,单位 $\mu\text{g/L}$),检出限为 5.48 $\mu\text{g/L}$ 。

2.4 N-BCDs@MIPs 对酪胺的特异性及抗干扰性评价

为了对 N-BCDs@MIPs 对酪胺吸附特异性进行研究,选择酪氨酸、色胺、色氨酸、组胺和组氨酸作为结构类似物,质量浓度为 150 $\mu\text{g/L}$ 进行了 N-BCDs@MIPs 及对照材料对酪胺结构类似物的响应试验,如图 7a 所示,N-BCDs@MIPs 对酪胺的响应斜率(K_{sv})为 0.00192,而对照材料响应斜率仅为 0.000571,仅为 N-BCDs@MIPs 的 29.7%,同时酪胺的结构类似物的响应斜率明显低于酪胺,这得益于在 N-BCDs@MIPs 合成过程中所形成的特定的三维空间结构使得 N-BCDs@MIPs 能够对酪胺具有高度的选择性吸附效果。同时将酪胺的结构类似物作为竞争性吸附物质干扰 N-BCDs@MIPs 对酪胺的吸附检测效果,结果显示(图 7b)在类似物浓度为 5,10 倍和 15 倍的干扰下,N-BCDs@MIPs 对酪胺的检测效果与仅含有酪胺的空白而言没有发生显著的改变,这表明 N-BCDs@MIPs 所形成的特定的三维空间结构对酪胺具有高度的选择性;除此之外,大部分潜在的干

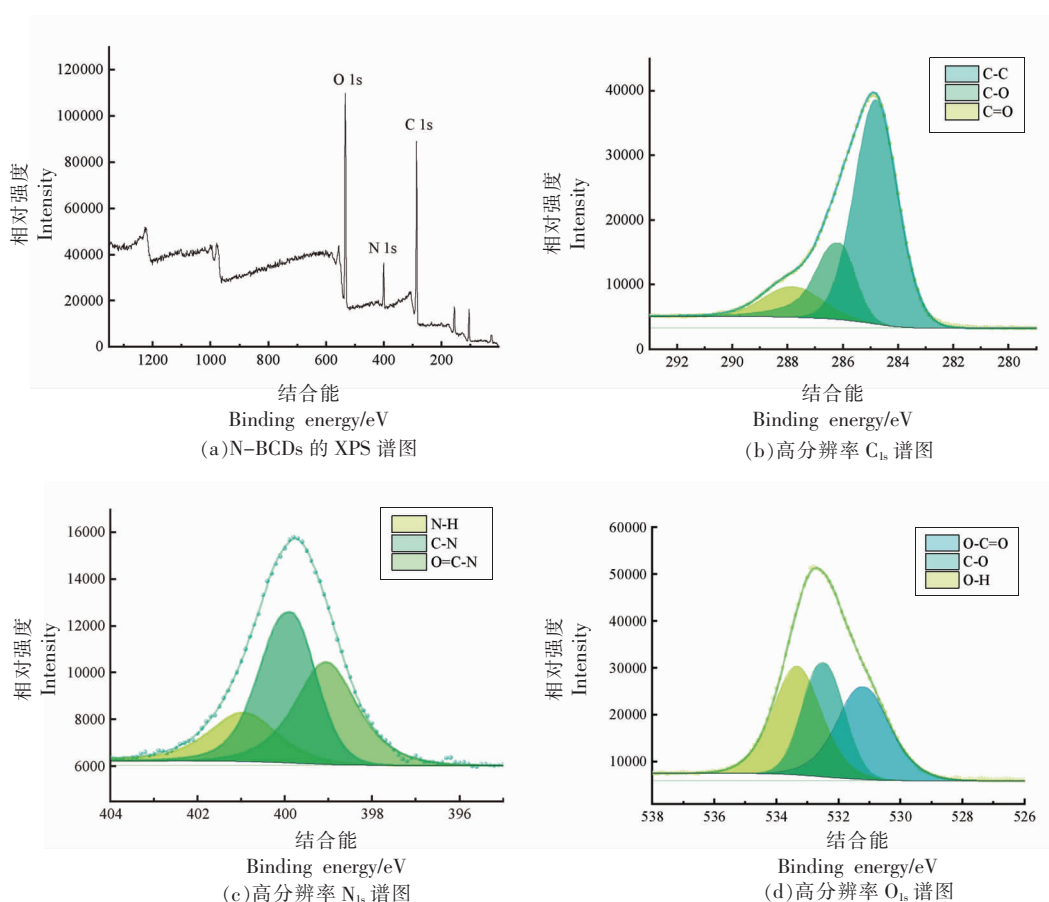
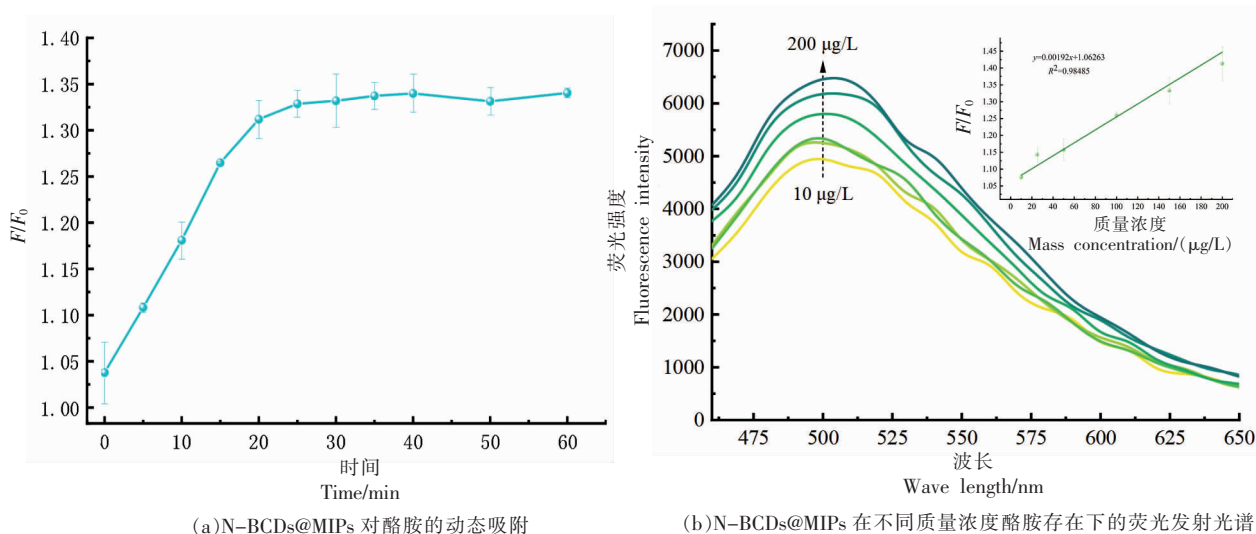


图 5 XPS 元素组成分析

Fig.5 XPS elemental composition analysis



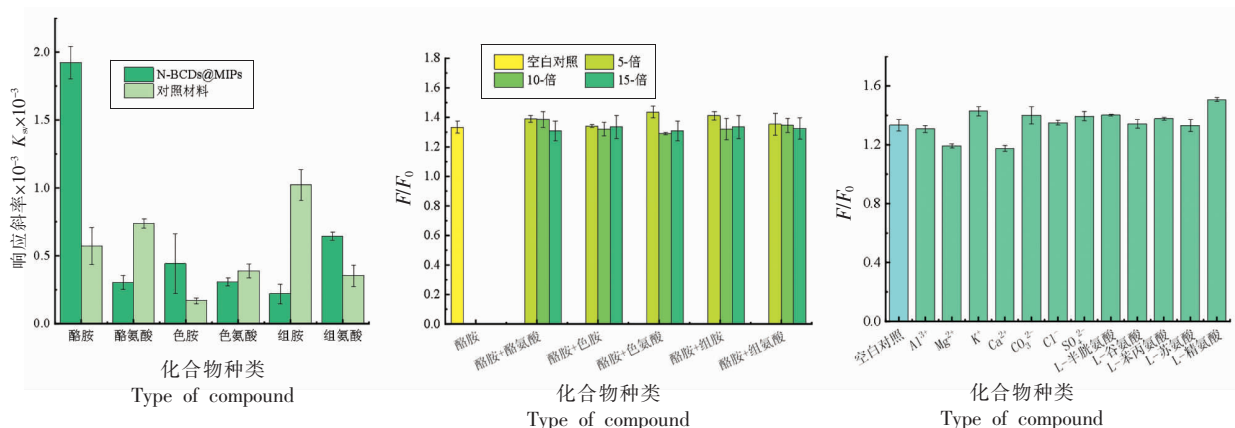
注: b 图内插图为 N-BCDs@MIPs 混合体系的荧光强度与酪胺浓度的线性曲线; a 图为加入 150 µg/L 酪胺后试验组的荧光强度与加入等体积溶剂的荧光强度比值; b 图插图为加入不同质量浓度酪胺后试验组的荧光强度与加入等体积溶剂的荧光强度比值。

图 6 N-BCDs@MIPs 检测酪胺

Fig.6 N-BCDs@MIPs for tyramine detection

扰物质(浓度为 1 mmol/L)对 N-BCDs@MIPs 检测酪胺的结果同样没有显著的影响(图 7c),进一步

说明了 N-BCDs@MIPs 对酪胺优异的特异性吸附效果。



(a)N-BCDs@MIPs 和对照材料对酪胺 (b)N-BCDs@MIPs 在 5,10 倍和 15 倍结构类似物存在 (c)N-BCDs@MIPs 在不同潜在干扰物存在及其结构类似物的吸附曲线斜率 的条件下对酪胺的吸附检测 的条件下对酪胺的吸附检测

注:b 图为分别加入 5,10 倍和 15 倍结构类似物的荧光强度与加入等体积溶剂的荧光强度的比值;c 图为加入不同潜在干扰物的荧光强度与加入等体积溶剂的荧光强度的比值。

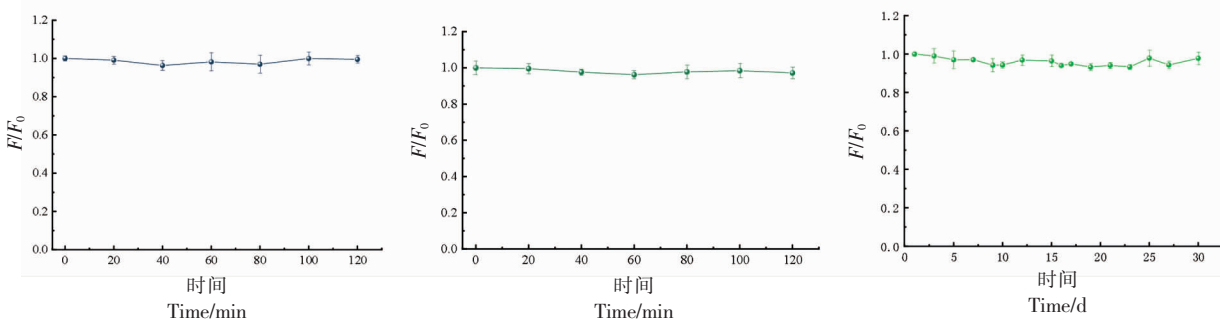
图 7 特异性及抗干扰性评价

Fig.7 Evaluation of specificity and anti-interference

2.5 N-BCDs 材料的稳定性

为了验证 N-BCDs 和 N-BCDs@MIPs 的荧光稳定性,将 N-BCDs 和 N-BCDs@MIPs 溶液同时置于紫外灯下照射 120 min 进而对其抗光漂白性进行评价,如图 8a、8b 所示,N-BCDs 和 N-BCDs@MIPs 的荧光强度经过连续 120 min 的紫外灯照射后几乎没有下降 (F 为经过紫外灯照射不

同时间后的荧光强度, F_0 为未经过紫外灯照射的荧光强度);同时,N-BCDs@MIPs 溶液在 30 d 内的荧光强度没有明显下降 (F 为不同存放时间的荧光强度, F_0 为第 1 天的荧光强度),进一步验证了 N-BCDs 和 N-BCDs@MIPs 具有良好的稳定性。



(a)N-BCDs 紫外灯照射 120 min 内的荧光强度 (b)N-BCDs@MIPs 紫外灯照射 120 min 内的荧光强度 (c)N-BCDs@MIPs 溶液 30 d 内荧光强度

注:a、b 图为紫外灯照射不同时间后的荧光强度与未经过紫外灯照射的荧光强度的比值;c 图为不同存放时间的荧光强度与第 1 天的荧光强度的比值。

图 8 荧光稳定性评价

Fig.8 Evaluation of fluorescence stability

2.6 实际样品中酪胺的检测

为了进一步验证所建立的荧光检测法对实际

样品的检测能力,通过对腊肉、酸奶和黄酒 3 种样品进行检测和加标回收试验。如表 1 所示,基于

N-BCDs@MIPs 的荧光检测法对于 3 种样品的检测结果与 HPLC 相差无几,同时相对标准偏差(RSD) 低于 7%;在加标回收试验中,基于 N-BCDs@MIPs 的荧光检测法表现出良好的回收率

(111.06%~122.03%),进一步表明了基于 N-BCDs@MIPs 的荧光检测法能够应用于实际食品中酪胺的检测。

表 1 实际样品中酪胺的检测

Table 1 Determination of tyramine in real samples

样品	加标量/ (mg/kg)或(mg/L)	N-BCDs@MIPs/ (mg/kg)或(mg/L)	回收率/%	RSD/%	HPLC/(mg/kg) 或(mg/L)	回收率/%	RSD/%
腊肉	0	15.41	—	6.09	19.08	—	0.32
	10	27.78	123.75	2.49	30.51	114.25	0.82
	50	68.22	105.63	1.82	64.52	90.89	0.56
	100	118.65	103.24	3.97	103.18	84.10	3.43
火腿	0	6.57	—	3.73	7.17	—	0.74
	10	17.57	109.97	1.40	18.13	109.57	3.85
	50	57.19	101.23	2.56	46.84	79.34	0.95
	100	106.97	100.42	2.50	92.83	85.65	1.87
酸奶	0	0.22	—	5.94	—	—	—
	10	9.68	94.61	2.25	11.01	110.13	1.71
	50	49.59	98.75	2.40	45.68	91.35	0.76
	100	98.48	98.27	1.13	88.22	88.22	1.57
腐乳	0	0.25	—	2.89	—	—	—
	10	8.94	86.88	2.98	11.80	118.02	2.55
	50	51.39	102.27	0.33	45.40	90.81	0.27
	100	98.75	98.50	0.14	87.20	87.20	0.55
黄酒	0	25.64	—	4.28	28.08	—	0.31
	10	36.89	112.52	2.98	39.68	116.00	0.32
	50	86.65	122.03	0.45	85.68	92.00	0.34
	100	136.70	111.06	1.32	135.75	107.67	0.28

注:“—”表示未检出。

3 结论

本试验使用一锅水热法以廉价的生物质原料作为碳源合成 BCDs,通过加入尿素进行氮元素掺杂有效提高 BCDs 的量子产率,并结合分子印迹技术建立了一种对酪胺具有特异性吸附的检测方法。该方法能够快速简单地完成检测,同时检出限可达 5.48 $\mu\text{g/L}$,当酪胺质量浓度在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 之间时,该方法的线性相关系数为 0.98485。使用本方法对实际样品中的酪胺含量的测定结果与 HPLC 结果一致,能够进行实际应用,所建立的基于 N-BCDs 荧光探针检测方法可适用于发酵食品中酪胺的快速检测。

参 考 文 献

[1] 李恒,王泽亮,邓维琴,等.甜瓣子中生物胺产生菌株和降解菌株的筛选[J].中国食品学报,2022,

22(10): 190-198.

LI H, WANG Z L, DENG W Q, et al. Screening of biogenic amines producing and degrading strains in broad bean past-meju[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(10): 190-198.

[2] 张黎明,章祎,赵云松,等.腌鱼中产生物胺菌株的筛选、鉴定及其特性研究[J].中国食品学报,2021,21(7): 291-299.

ZHANG L M, ZHANG Y, ZHAO Y S, et al. Screening, identification and characteristics of biogenic amines producing strains in salted fish[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(7): 291-299.

[3] SHENG W, SUN C C, FANG G Z, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of tyramine as an index of freshness in meat and seafood[J]. Journal of Agricultural

- and Food Chemistry, 2016, 64(46): 8944–8949.
- [4] LUO S Z, JIA B Z, ZHANG W F, et al. A high-resolution colorimetric immunoassay for tyramine detection based on enzyme-enabled growth of gold nanostar coupled with smartphone readout[J]. Food Chemistry, 2022, 396: 133729.
- [5] LIU M, ZHANG B, ZHANG M, et al. A dual-recognition molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor based on g-C₃N₄ nanosheets sensitized by electrodeposited rGO-COOH for sensitive and selective detection of tyramine[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 311: 127901.
- [6] LU Z W, QIN J, WU C, et al. Dual-channel MIRECL portable devices with impedance effect coupled smartphone and machine learning system for tyramine identification and quantification[J]. Food Chemistry, 2023, 429: 136920.
- [7] ÖNAL A, TEKKELI S E K, ÖNAL C. A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods[J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 509–515.
- [8] TIRIS G, YANIKOĞLU S R, CEYLAN B, et al. A review of the currently developed analytical methods for the determination of biogenic amines in food products[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133919.
- [9] 宋新杰, 吕天凤, 吴丽, 等. 基于免疫脂质体的荧光分析法检测棒曲霉素[J]. 中国食品学报, 2023, 23(5): 381–386.
- SONG X J, LÜ T F, WU L, et al. An immunoliposome-based fluorescence assay for the detection of patulin[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(5): 381–386.
- [10] 孙世明, 白晓云, 史爱莹, 等. 基于上转换分子印迹聚合物荧光传感检测食品中的章鱼胺[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 254–259.
- SUN S M, BAI X Y, SHI A Y, et al. Fluorescence sensing detection of octopamine in foods based on upconversion molecularly imprinted polymers[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 254–259.
- [11] HE J B, XIE C C, MENG C, et al. Molecularly imprinted thermosensitive probe based on fluorescent advanced glycation end products to detect α -dicarbonyl compounds and inhibit pyrroline formation[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2023, 415(20): 5011–5021.
- [12] ZHANG Y, CHEN Y H, ZHANG D W, et al. Peptide nanodots-bridged metal-organic framework (PNMOF): Intelligently design a cascade amplification platform for smartphone-facilitated mobile fluorescence imaging detection of pyrethroids[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 468: 143690.
- [13] ZHANG D W, LIU H L, GENG W T, et al. A dual-function molecularly imprinted optopolymer based on quantum dots-grafted covalent-organic frameworks for the sensitive detection of tyramine in fermented meat products[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 639–645.
- [14] ZHANG D W, ZHANG F R, LIAO Y H, et al. Carbon quantum dots from pomelo peel as fluorescence probes for "turn-off-on" high-sensitivity detection of Fe³⁺ and L-cysteine[J]. Molecules, 2022, 27(13): 4099.
- [15] YUAN X Y, ZHU X C, SUN R H, et al. Sensory attributes and characterization of aroma profiles of fermented sausages based on fibrous-like meat substitute from soybean protein and coprinus comatus[J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131537.
- [16] ZHU X C, YUAN X Y, HAN L X, et al. A smartphone-integrated optosensing platform based on red-emission carbon dots for real-time detection of pyrethroids[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 191: 113460.
- [17] YUAN X Y, LIU H L, SUN B G. N-doped carbon dots derived from covalent organic frameworks embedded in molecularly imprinted polymers for optosensing of fonicamid[J]. Microchemical Journal, 2020, 159: 105585.
- [18] HAN L X, ZHU P, LIU H L, et al. Molecularly imprinted bulk and solgel optosensing based on biomass carbon dots derived from watermelon peel for detection of ethyl carbamate in alcoholic beverages[J]. Microchimica Acta, 2022, 189: 286.
- [19] 曲松楠, 孙铭鸿, 田震, 等. 氮掺杂碳点的合成与应用[J]. 发光学报, 2019, 40(5): 557–580.
- QU S N, SUN M H, TIAN Z, et al. Synthesis and application of nitrogen-doped carbon dots[J]. Chinese Journal of Luminescence, 2019, 40(5): 557–580.
- [20] ZHANG D W, ZHANG F R, WANG S N, et al. Red-to-blue colorimetric probe based on biomass carbon dots for smartphone-integrated optosensing of Cu(II) and L-cysteine[J]. Spectrochimica Acta Part

- A: *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, 290: 122285.
- [21] HAN L X, ZHU X C, ZHANG D W, et al. Peptide-based molecularly imprinted polymer: A visual and digital platform for specific recognition and detection of ethyl carbamate[J]. *ACS Sensors*, 2023, 8(2): 694–703.
- [22] 闵盛, 孙群, 汪洋, 等. 高效液相色谱法测定畜禽肉中8种生物胺含量国家标准方法的改进[J]. *理化检验(化学分册)*, 2022, 58(5): 607–611.
- MIN S, SUN Q, WANG Y, et al. Improvement of national standard method for determination of 8 biogenic amines in livestock and poultry meat by high performance liquid chromatography[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2020, 58(5): 607–611.
- [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): 43–45, 48.
- LIU J C, CHEN L J, LIU S, et al. Determination of biogenic amines in different dairy products by high performance liquid chromatography method[J]. *China Dairy Industry*, 2018, 46(5): 43–45, 48.
- [24] 刘慧琳, 赵源, 张瑛, 等. 白酒和黄酒中生物胺的高效液相色谱分析法[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(8): 248–254.
- LIU H L, ZHAO Y, ZHANG Y, et al. Determination of biogenic amines in Baijiu and Chinese rice by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 248–254.
- [25] ZHANG D W, ZHANG F R, WANG S N, et al. Energy-efficient preparation of amino and sulfhydryl functionalized biomass carbon dots via a reverse microemulsion for specific recognition of Fe³⁺ and L-cysteine[J]. *Journal of Fluorescence*, 2023, 33(3): 1111–1123.
- [26] 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.
- [27] YUAN X Y, HE J B, SU H F, et al. Magnetically controlled nanorobots based on red emissive peptide dots and artificial antibodies for specific recognition and smart scavenging of N_ε-(carboxymethyl) lysine in dairy products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(12): 4970–4981.

Fluorescent Probe of Biomass-based Nitrogen-doped Carbon Dots for Tyramine Detection

DAI Zhuofan¹, ZHANG Yuhua¹, MA Yuanchen¹, WANG Shengnan¹, ZHANG Dianwei^{1*},
WANG Fenghuan¹, LIU Huilin²

¹*School of Light Industry Science and Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048*

²*School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048*

Abstract Tyramine is an important biogenic amine, and its presence has a significant impact on food safety and human health. In this study, biomass materials were used as carbon sources to prepare biomass carbon dots. The addition of urea for nitrogen doping effectively improved the quantum yield of biomass carbon dots. Combined with molecular imprinting technology, a fluorescent probe specifically recognizing tyramine was prepared, and a rapid fluorescence detection method for tyramine in fermented food was established. The results indicated that at a mass concentration of 10–200 μg/L, the concentration of tyramine and the fluorescence intensity of the prepared fluorescent probe had a good linear correlation with a linear equation $y=0.00192x+1.06263$ ($R^2=0.98485$), and a detection limit of 5.48 μg/L. It had a good specificity for tyramine and no cross reaction with other biogenic amines and their structural analogues. Through the standard addition recovery experiment on fermented food samples such as bacon, yogurt, fermented bean curd, etc., the standard addition recovery rate was 111.06%–122.03%, and the relative standard deviation was lower than 6.09%, and the results were consistent with the HPLC method. This method was rapid, sensitive, and highly accurate, and could be used for the detection of tyramine in fermented foods.

Keywords tyramine; biomass carbon dots; fermented food; fluorescent probe; molecular imprinting polymers