

基于N,S-CDs@MnO₂-DAO的荧光生物传感器检测水产品中的组胺、尸胺和腐胺

李美焕, 曹云睿, 魏婷婷, 宋雨, 刘炎峻, 李泽毅, 徐杰*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 为定量检测水产品中的组胺 (Hist)、尸胺 (Cad) 和腐胺 (Put), 该研究构建了一种基于氮硫掺杂碳点和二氧化锰纳米花的复合材料 (N,S-CDs@MnO₂) 及二胺氧化酶 (DAO) 的新型荧光生物传感器。通过对合成材料的表征验证了 N,S-CDs@MnO₂ 的成功合成, 通过对 N,S-CDs@MnO₂-DAO 传感器检测条件的优化实现了对目标生物胺 (BAs) 的定量检测。结果表明, 该荧光生物传感器对 Hist、Cad 和 Put 的检测线性范围均为 0~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检出限 (LOD) 分别为 0.59、0.65 和 0.85 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 方法灵敏度良好。对具有潜在干扰的氨基酸、无机盐离子和还原性物质无显著响应, 方法选择性良好。应用于实际水产样品的检测中, 加标回收率在 93.17%~105.34% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 小于 5.83%, 且在鱼、虾和贝类样品的检测中, 传感器与 HPLC 法检测结果的相对偏差在 10% 以内, 方法准确性良好。因此, 开发的 N,S-CDs@MnO₂-DAO 荧光生物传感器对 Hist、Cad 和 Put 的检测具有良好的灵敏度、选择性和准确性, 能够为水产品安全和质量控制提供有力工具。

关键词: 氮硫掺杂碳点; 荧光检测; 生物胺; 二胺氧化酶; 水产品

文章编号: 1673-9078(2026)4-287-295

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0181

Development of A Fluorescent Biosensor Based on N,S-CDs@MnO₂-DAO for Detecting Histamine, Cadaverine, and Putrescine in Seafood

LI Meihuan, CAO Yunrui, WEI Tingting, SONG Yu, LIU Yanjun, LI Zeyi, XU Jie*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A novel fluorescent biosensor was developed for the quantitative detection of histamine (Hist), cadaverine (Cad), and putrescine (Put) in seafood. This biosensor is based on the composite material of N,S co-doped carbon dots and manganese dioxide nanoflowers (N,S-CDs@MnO₂) and diamine oxidase (DAO). The successful synthesis of N,S-CDs@MnO₂ was confirmed through characterization of the synthetic material, and quantitative detection of target biogenic amines was performed by optimizing the detection conditions of the N,S-CDs@MnO₂-DAO sensor. The results showed that the linear detection ranges of the fluorescence biosensor for Hist, Cad, and Put were all 0~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and the detection limits were 0.59, 0.65, and 0.85 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, indicating good method sensitivity. No significant response was observed to amino acids, inorganic salt ions, or reducing substances with potential interference, suggesting good method selectivity. For actual seafood samples, the spiking recovery rate was between

引文格式:

李美焕,曹云睿,魏婷婷,等.基于N,S-CDs@MnO₂-DAO的荧光生物传感器检测水产品中的组胺、尸胺和腐胺[J].现代食品科技,2026,42(4):287-295.

LI Meihuan, CAO Yunrui, WEI Tingting, et al. Development of a fluorescent biosensor based on N,S-CDs@MnO₂-DAO for detecting histamine, cadaverine, and putrescine in seafood [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(4): 287-295.

收稿日期: 2025-02-14; 修回日期: 2025-04-08; 接受日期: 2025-04-09

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2024YFD2100502); 山东省博士后基金项目 (SDCX-ZG-202303018)

作者简介: 李美焕 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: huanlmn@163.com

通讯作者: 徐杰 (1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品化学与脂质组学, E-mail: xujie9@ouc.edu.cn

93.17% and 105.34%, and the relative standard deviation was less than 5.83%. For fish, shrimp, and shellfish samples, relative deviation between the detection results of the sensor and HPLC was less than 10%, indicating good accuracy of the method. Therefore, the developed N,S-CDs@MnO₂-DAO fluorescent biosensor had good sensitivity, selectivity, and accuracy for the detection of Hist, Cad, and Put. It is an effective tool for the safety and quality control of seafood.

Key words: N,S co-doped carbon dots; fluorescence detection; biogenic amine; diamine oxidase; seafood

水产品中的游离氨基酸在微生物作用下会产生生物胺 (Biogenic Amines, BAs), BAs 的含量和水产品新鲜度密切相关, 已作为新鲜度的评价指标之一^[1]。组胺 (Histamine, Hist)、尸胺 (Cadaverine, Cad) 和腐胺 (Putrescine, Put) 是水产品中常见的 BAs, 其中 Hist 的毒性最强, 摄入大量 Hist 会导致食物中毒, 引起皮肤瘙痒、头疼、呕吐甚至死亡^[2]。中国国家标准中规定高组胺鱼类中 Hist 含量不应超过 400 mg·kg⁻¹, 其他鱼类则不应超过 200 mg·kg⁻¹^[3]。此外, 尽管 Cad 和 Put 对人体没有直接的生物毒性, 但其易与亚硝酸盐反应产生致癌物质亚硝胺, 且能够协同增强 Hist 毒性对人体造成健康威胁^[4]。因此, 检测 Hist、Cad 和 Put 的含量对于水产品品质和安全是十分必要的。

目前, 用于食品中 BAs 检测的传统方法通常需要对样品进行衍生化处理^[5], 操作复杂且仪器成本高, 并不适用于现场实时监测 BAs。而在 BAs 的检测方法中, 电化学、比色和荧光方法均具有实时监测 BAs 的潜力, 其中荧光法对比电化学法更具视觉追踪潜力, 对比比色法更具灵敏检测效果。Cao 等^[6]应用上转换纳米材料实现了水产品中 Hist 的灵敏荧光检测。Zhang 等^[7]通过合成一系列基于苯并噻唑的荧光化合物实现了肉类中 Cad 和 Put 的实时监测。然而, 这些方法主要针对单胺和二胺, 少有报道使用荧光方法同时对 Hist、Cad 和 Put 进行定量检测。碳点 (Carbon Dots, CDs) 作为一种新兴的荧光材料, 具有良好的光学性质且成本低、易于合成和表面改性。元素掺杂的方式能够对 CDs 的表面进行修饰进而增强其光学性能^[8]。此外, CDs 能够与荧光猝灭剂结合从而实现对多种物质的灵敏检测, 其中二氧化锰纳米花 (Manganese Dioxide Nanoflowers, MnO₂ NFs) 由于能够吸收宽光谱范围的光而作为一种常用的荧光猝灭剂, 且其具有大的比表面积可以携带大量 CDs^[9]。Wang 等^[10]将 CDs 与 MnO₂ NFs 组合形成 CDs-MnO₂, 实现了对谷胱甘肽、半胱氨酸和同型半胱氨酸的区分检测。因此, CDs 与 MnO₂ NFs 具有组合并检测目标物质的潜力。

本论文基于二胺氧化酶 (Diamine Oxidase, DAO) 催化 Hist、Cad 和 Put 产生 H₂O₂ 的反应, 建立了一种能够对多种 BAs 进行定量检测的荧光生物传感器。在

该传感器中 N,S-CDs@MnO₂ 是荧光恢复型探针, 其中 MnO₂ 能够猝灭 N,S-CDs 的荧光, 而 H₂O₂ 通过分解 MnO₂ 恢复荧光, 进而实现对目标 BAs 的灵敏、准确检测。因此, 本研究提供了一种检测水产品中 Hist、Cad 和 Put 的灵敏、准确且可靠的荧光传感方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

柠檬酸、L-半胱氨酸、BAs 和氨基酸等试剂, 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 猪肾来源的 DAO, 购自 Sigma 公司; 实验用超纯水, 均由美国 Milli-Q Elix-5 纯水仪制得; 实验用水产样品从青岛大喙头海鲜市场购得。

1.2 主要仪器设备

JEM-1200EX 透射电镜 (Transmission Electron Microscope, TEM), 日本电子株式会社; Axis Supra+ 型 X 射线光电子能谱仪 (X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS), 日本岛津公司; Nicolet iS10 型傅立叶变换红外光谱仪 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR), 美国赛默飞世尔科技公司; Nano ZS90 型纳米粒度仪, 英国马尔文帕纳科公司; UV-2550 型紫外分光光度计, 日本岛津公司; F-4600 型荧光分光光度计, 日本日立公司。

1.3 方法

1.3.1 N,S-CDs@MnO₂的制备

利用水热法制备 N,S-CDs。将 2.00 g 柠檬酸和 1.00 g L-半胱氨酸溶解于 5 mL 纯水中, 于马弗炉 240 °C 加热反应 1 h, 冷却后经纯水多次洗涤。最后, 通过冷冻干燥获得 N,S-CDs。

对典型合成方法^[11]做部分修改制备 MnO₂ NFs。将 240 mg 高锰酸钾溶于 200 mL 的 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液中, 加入 5 mL 的 100 mmol·L⁻¹ CA 溶液, 反应 4 h 后, 经水洗后得到 MnO₂ NFs。取 MnO₂ NFs 粉末 100 mg 溶解于 100 mL 甲苯中, 加入 1 mL 的 3-氨基丙基三乙氧基硅烷, 在氮气保护状态下 120 °C 回流反应 6 h, 经无水乙醇和纯水多次洗涤后得到 NH₂-MnO₂。

向 2 mL 的 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ N,S-CDs 溶液中加入 4 mg 的 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺和 2 mg 的 N-羟基琥珀酰亚胺, 室温搅拌反应 15 min, 加入 1 mL 的 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$, 搅拌反应 4 h。水洗后 60°C 下烘干得到 N,S-CDs@ MnO_2 。

1.3.2 组胺、尸胺和腐胺标准溶液的定量检测

将 100 μL 的 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ N,S-CDs@ MnO_2 、100 μL 的 $120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DAO 和 800 μL 不同浓度 (0、5、10、20、40、80、120、160 和 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Hist、Cad 和 Put 依次加入 1.5 mL 离心管中, 上述试剂均溶解在 pH 值为 7.2 的磷酸缓冲液中。在 37°C 孵育 20 min 后, 进行荧光光谱扫描, 其中激发光源为氙灯, 激发波长为 330 nm, 工作电压为 900 V, 出射狭缝和入射狭缝宽度均为 10 nm。

1.3.3 选择性和抗干扰能力检测

将 Hist、Cad 和 Put 作为目标 BAs, 而酪胺、色胺、精胺和亚精胺作为目标 BAs 的结构类似物。以终浓度为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶解于磷酸缓冲液中, 取 800 μL BAs 加入至最佳条件下的 N,S-CDs@ MnO_2 -DAO 传感体系中反应, 获取荧光光谱。

抗干扰能力分析选择了在实际水产样品中可能存在干扰的 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 等无机盐离子, 组氨酸、赖氨酸、精氨酸和甘氨酸等氨基酸以及半胱氨酸、抗坏血酸和谷胱甘肽等还原性物质。设置无机盐离子和氨基酸的质量浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 还原性物质为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 加入至最佳条件下的 N,S-CDs@ MnO_2 -DAO 传感体系中反应。此外, 向上述体系中加入 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hist 溶液进行竞争性实验。

1.3.4 实际样品分析

选择 25°C 储藏 0 h 和 24 h 的鱼 (鲈鱼)、虾 (南美白对虾) 和贝 (四角蛤蜊) 样品进行 Hist、Cad 和 Put 的检测。依据 Wang 等^[12] 的方法进行样品预处理。取 10 g 样品的可食部分溶于 50 mL 纯水中, 离心后取上清液, 将 pH 值调至 12.0, 加入正丁醇和三氯甲烷 (1:1, V/V) 的混合液, 离心取有机相, 氮气吹干并经磷酸缓冲液溶解后, 与 N,S-CDs@ MnO_2 -DAO 传感体系混合, 在最佳检测条件下反应, 并进行荧光上机检测, 同时进行 HPLC 检测。回收率实验是向新鲜比目鱼样品中加入 Hist、Cad 和 Put 至不同浓度, 进行荧光上机检测。

1.4 数据处理

所有数据图均由 Origin 2022 软件绘制而成, 数据处理使用 Advantage 和 OMNIC 等软件。

2 结果与讨论

2.1 N,S-CDs@ MnO_2 的表征

通过 TEM 观察合成材料的表面形貌, 图 1a 显示 N,S-CDs 具有均匀的球形结构, 平均粒径约为 1.66 nm。图 1b 展示了 MnO_2 NFs 的纳米花状形态证实其合成成功^[13], 其多层褶皱结构为 N,S-CDs 的连接提供了大的比表面积。对比来看, 图 1c 中 N,S-CDs@ MnO_2 也具有纳米花形态, 但呈现颜色更深, 推测是 N,S-CDs 成功附着于 MnO_2 NFs 表面所致。

应用 XPS、FT-IR 和 Zeta 电位进一步表征 N,S-CDs@ MnO_2 的成功合成。N,S-CDs 的 XPS 图谱 (图 1d) 显示其中存在 C、O、N 和 S 元素。图 1e 为 N,S-CDs 中 C1s 的能谱图, 其中 284.80 eV 对应的是 C-C 官能团, 286.32 eV 证实了 C-O, C-N 和 C-S 的存在, 而 288.49 eV 则对应了 O-C=O 官能团。图 1f 是 N,S-CDs 中 N1s 的能谱图, 400.04 eV 和 401.39 eV 处的峰证实 C-N-H 的存在, 图 1g 则是 S2p 的能谱图, 证实了 C-S-H 的存在。这说明 N 和 S 元素成功掺杂入 CDs 中, 且合成的 N,S-CDs 表面可能存在羧基、氨基和巯基等官能团。对于 N,S-CDs@ MnO_2 , 图 1h 所示 XPS 能谱图中显示了 C、N、O 和 Mn 元素, 其中 S 元素的缺失可能是由于合成后含量较少所致。图 1i 中 Mn2p 能谱图显示的 653.83 eV 处的峰对应 Mn (IV) $2p_{1/2}$, 642.13 eV 处的峰对应 Mn (IV) $2p_{3/2}$, 峰值相距 11.71 eV 说明了 N,S-CDs@ MnO_2 中的 Mn 元素存在 +4 价态^[14], 证实了其中 Mn 的存在状态为 MnO_2 。

如图 2a 所示, N,S-CDs 的 FT-IR 光谱图中 3433 cm^{-1} 和 3230 cm^{-1} 处的峰对应 O-H 或 N-H 的伸缩振动, 1712 cm^{-1} 处的特征峰与 C=O 相关, 2581、1403 和 1120 cm^{-1} 处出现的峰分别对应了 S-H、C-N 和 C-S^[15]。以上结果同样说明 N 和 S 元素在 CDs 中的成功掺杂。 MnO_2 NFs 在 521 cm^{-1} 处的特征峰证实了 Mn-O 和 Mn-O-Mn 的存在^[16], 对比来看, $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 在 1560 cm^{-1} 处出现对应 N-H 的弯曲振动^[17], 说明 MnO_2 NFs 的合成及改性成功。N,S-CDs@ MnO_2 与 $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 对比, 在 3230 cm^{-1} 和 1560 cm^{-1} 附近代表 N-H 的特征峰减弱, 推测是由于 $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 与 N,S-CDs 发生氨基和羧基的缩合反应所致。以上结果说明 N,S-CDs@ MnO_2 的成功合成。

如图 2b 所示, N,S-CDs 表面电位呈负值佐证了其表面羧基的存在, 这不仅提高了 N,S-CDs 的水分散性且为与 $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 的化学连接提供了功能基团。 MnO_2 NFs 的表面电位在氨基修饰后由负值变为正值, 这佐

证了 $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 表面氨基的存在。N,S-CDs 的表面电位为 -11.0 mV ，与 $\text{NH}_2\text{-MnO}_2$ 连接后的 N,S-CDs@

MnO_2 表面电位变为 -2.7 mV ，表面带电量的减少也进一步佐证 N,S-CDs@ MnO_2 的成功合成。

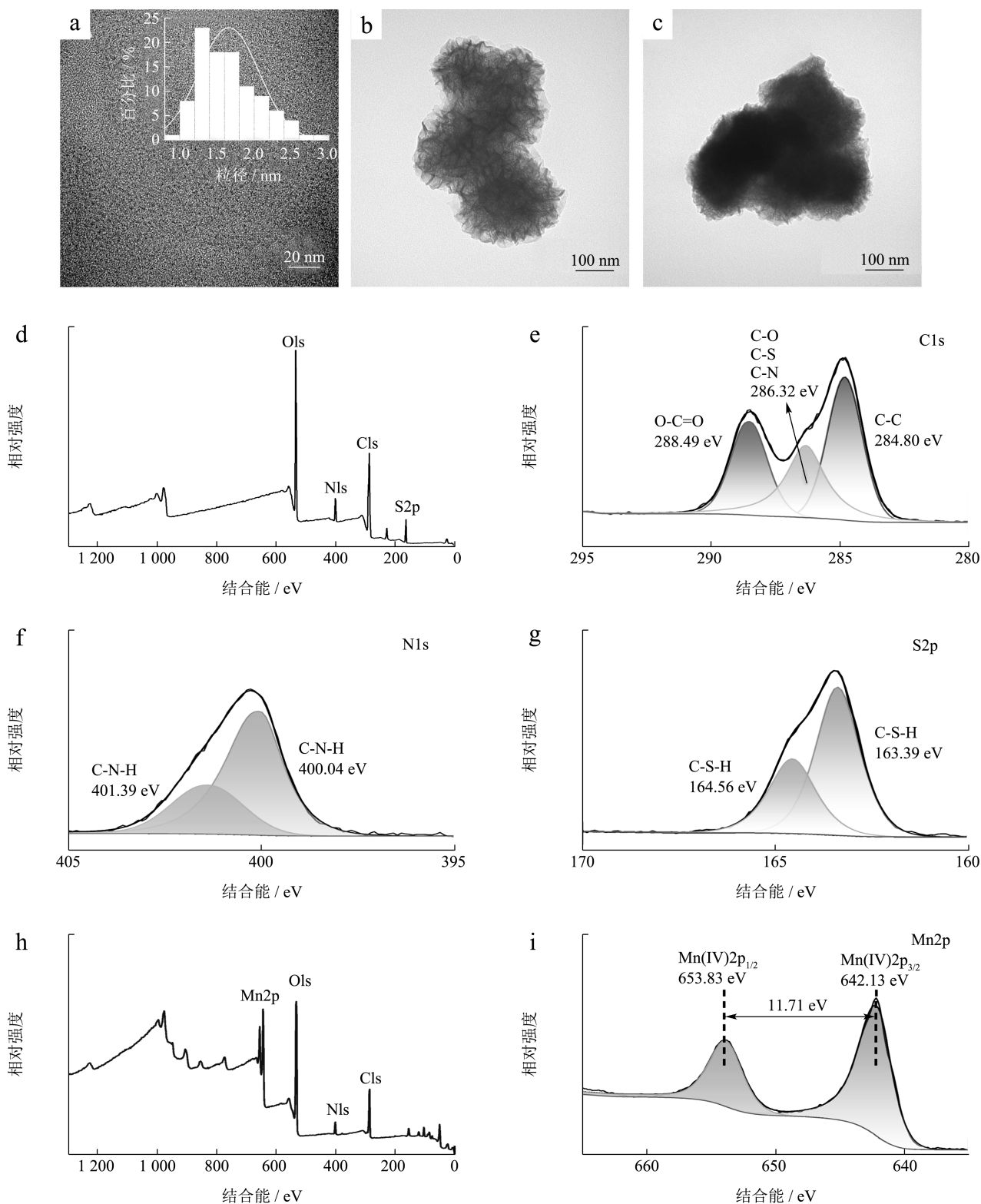


图 1 合成材料的 TEM 及 XPS 谱图

Fig.1 TEM and XPS spectra of the synthetic materials

注：a、b、c 分别为 N,S-CDs、 MnO_2 NFs、N,S-CDs@ MnO_2 的 TEM 图；d 为 N,S-CDs 的 XPS 谱图；e、f、g 分别为 C1s、N1s、S2p 的高分辨能谱图；h 为 N,S-CDs@ MnO_2 的 XPS 谱图；i 为 Mn2p 的高分辨能谱图。

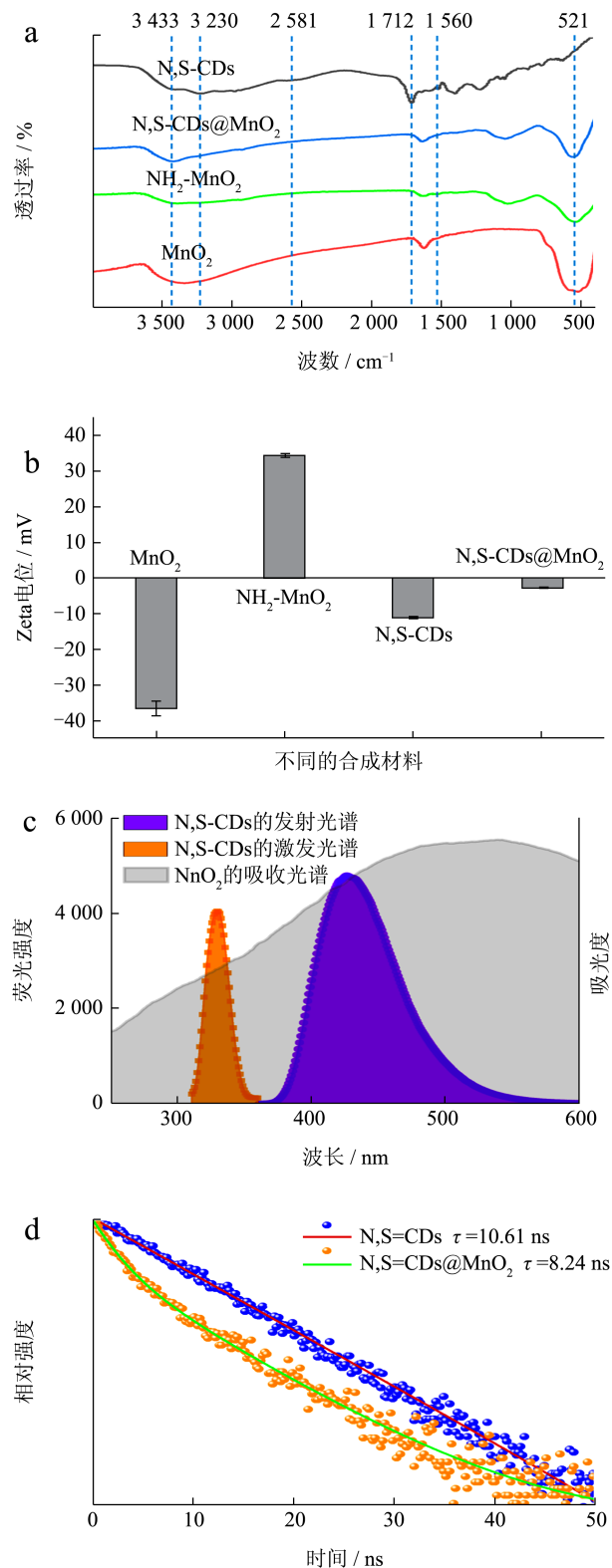


图2 合成材料的光学及表面电荷性能

Fig.2 Optical properties and surface charge characteristics of the synthetic materials

注: a 为 FT-IR 光谱图; b 为表面电位; c 为 MnO_2 的紫外可见吸收光谱与 N,S-CDs 的荧光激发和发射光谱; d 为荧光寿命。

此外,对 N,S-CDs@ MnO_2 的荧光猝灭机制进行探究。如图 2c 所示, MnO_2 NFs 的紫外可见吸收光谱与 N,S-CDs 的荧光激发和发射光谱均有重叠,这表明 MnO_2 NFs 猝灭荧光的机制为内滤效应 (Inner Filter Effect, IFE) 或荧光共振能量转移 (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET)^[18]。而图 2d 中揭示了 N,S-CDs 的荧光寿命为 10.61 ns, N,S-CDs@ MnO_2 的荧光寿命为 8.24 ns, 荧光寿命的衰减表明 N,S-CDs@ MnO_2 的荧光猝灭机制主要为 FRET^[19]。并对相同浓度的 N,S-CDs@ MnO_2 在 1 个月内的荧光强度值进行检测,检测结果的相对标准偏差 (Relative Standard Deviation, RSD) 值约为 1.76%,说明合成的 N,S-CDs@ MnO_2 具有良好的荧光稳定性。

2.2 检测原理

N,S-CDs@ MnO_2 -DAO 传感器通过特异性酶 DAO 来识别目标 BAs, 这与 DAO 的空腔结构及底物氨基之间的距离相关^[20], Cad 和 Put 作为二胺是 DAO 的最佳底物, 而 Hist 中特殊的咪唑环结构使其能够被 DAO 高催化氧化产生 H_2O_2 , Leonardo 等^[21]即利用该原理将 DAO 与磁珠组合并固定在特殊电极上形成电化学传感器, 实现了对 Hist、Cad 和 Put 的同时检测。在本研究中 DAO 与目标 BAs 反应产生的 H_2O_2 作为一种还原性物质能够分解 MnO_2 进而释放 N,S-CDs, 使传感体系的荧光强度增强 (图 3), 荧光增强的程度与 BAs 浓度存在相关性, 由此可用来检测 Hist、Cad 和 Put 的含量。

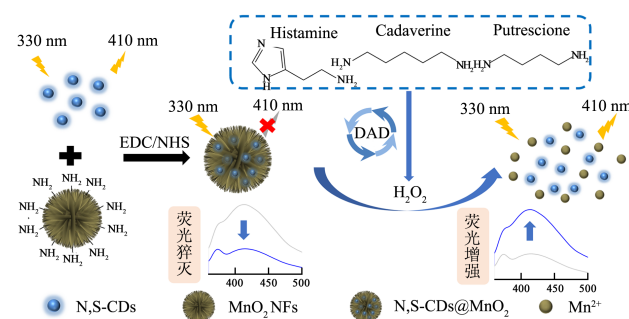


图3 N,S-CDs@ MnO_2 -DAO 荧光生物传感器检测 Hist、Cad 和 Put 的原理示意图

Fig.3 Schematic diagram of N,S-CDs@ MnO_2 -DAO fluorescent biosensor detecting Hist, Cad and Put

2.3 检测条件优化

为实现对目标 BAs 的高灵敏检测, 基于单因素实验对传感器的反应条件进行优化。如图 4a~4b 所示, 反应温度为 37 °C 且 pH 值为 7.2 时传感器的荧光强度

最强,这可能与 DAO 的最适反应条件相关^[22]。在质量浓度为 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时荧光强度最强(图 4c),推测是由于随着 N,S-CDs@MnO_2 质量浓度的增加, N,S-CDs 的含量也随之增加,进而荧光强度增强。而当质量浓度超过 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,体系中 MnO_2 的含量增加,在相同条件下,一定量 BAs 反应生成的 H_2O_2 不能完全分解 MnO_2 ,而未分解的 MnO_2 对荧光具有猝灭效果。因此,将 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 N,S-CDs@MnO_2 作为传感器的最佳条件。检测添加目标 BAs 后传感器在 40 min 内荧光强度的变化情况(图 4d),可知荧光强度在反应发生 20 min 后趋于稳定。因此,将 20 min 作为反应的孵育时间。

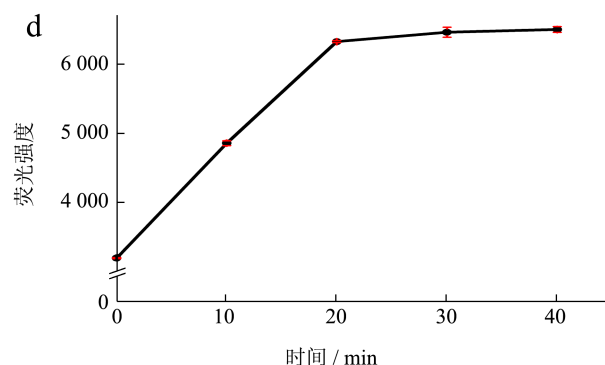
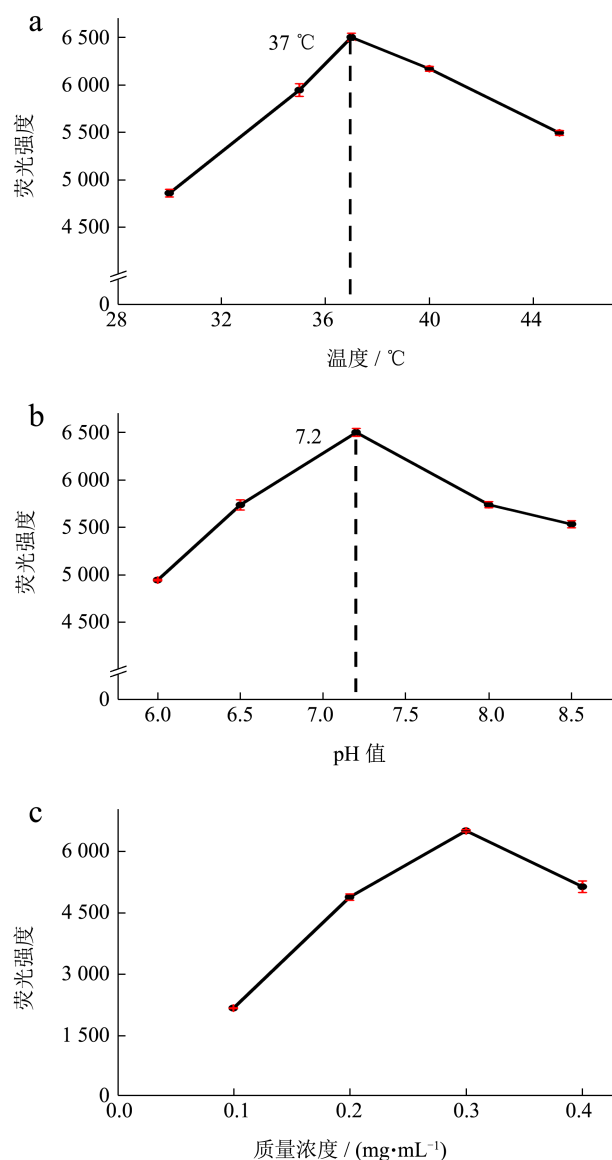


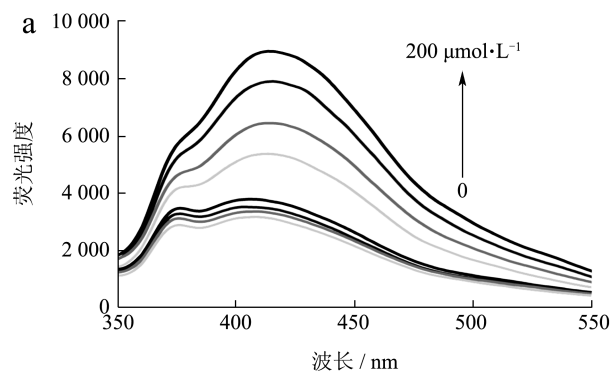
图 4 N,S-CDs@MnO_2 -DAO 传感器最佳反应条件

Fig.4 Optimal reaction conditions for N,S-CDs@MnO_2 -DAO sensor

注:(a) 反应温度,(b) 反应 pH 值,(c) N,S-CDs@MnO_2 添加质量浓度和 (d) 孵育时间。

2.4 标准曲线的建立

在最佳检测条件下,分别探索 Hist、Cad 和 Put 的浓度与传感器荧光强度之间的线性关系。如图 5a 所示,随着 Hist 浓度的增加,光谱的荧光强度随之增强。图 5b 中显示了目标 BAs 分别在 $0\sim 200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内的标准曲线,对于 Hist,标准方程为 $y=28.16x+29.52$,Cad 的标准方程为 $y=25.68x+12.86$,Put 的标准方程为 $y=19.54x+12.92$ 。Hist、Cad 和 Put 各自标准曲线斜率存在差异,推测是由于 DAO 对不同底物的催化效率不同所致^[23],标准曲线的 R^2 均大于 0.99,说明其具有良好的线性相关性。此外,开发的 N,S-CDs@MnO_2 -DAO 传感器对于 Hist、Cad 和 Put 的检出限 (LOD, $\text{LOD}=3\sigma/k$, σ 为 5 个空白样品检测值的标准偏差, k 为标准曲线的斜率) 分别为 0.59、0.65 和 $0.85 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,说明该传感器具有较高的检测灵敏度。



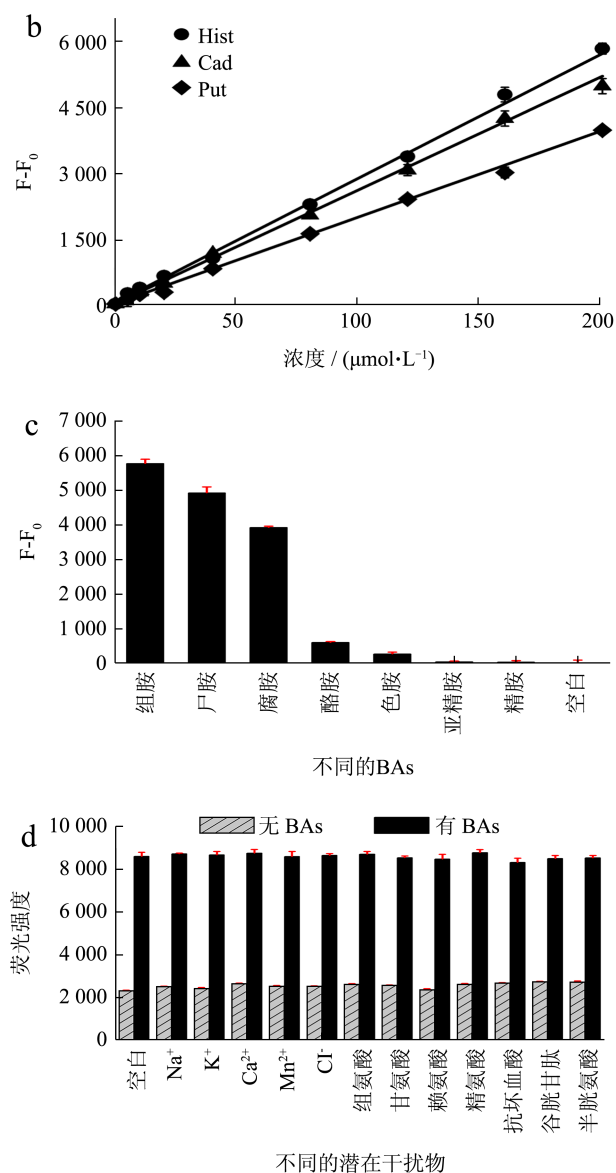


图5 荧光生物传感器的检测性能

Fig.5 Detection performance of the fluorescent biosensors

注：(a) 不同浓度 Hist 下传感器的荧光光谱；(b) 荧光强度与 BAs 浓度之间的线性关系；(c) 传感器对不同 BAs 的荧光响应；(d) 传感器对不同潜在干扰物的荧光响应。F 和 F₀ 分别为实验和空白样品的荧光强度值。

如表 1 所示，将开发的荧光生物传感器与已报道的 BAs 传感器进行性能对比，其中 LOD 值和标准曲线的斜率能够表征检测方法的灵敏度。因此，本文开发的 N,S-CDs@MnO₂-DAO 荧光生物传感器具有良好的检测灵敏度和适中的检测线性范围。

2.5 选择性和抗干扰检测

为评估传感器对 Hist、Cad 和 Put 的特异性，对水产品中存在的几种 BAs 进行检测。如图 5c 所示，在相同浓度下，N,S-CDs@MnO₂-DAO 传感器对 Hist 具有最强的荧光响应，其次是 Cad 和 Put，这与图 5b 中标准曲线斜率的差异是对应的。此外，传感器对酪胺、色胺、精胺和亚精胺无显著响应。说明开发的传感器对目标 BAs 检测具有良好的特异性。抗干扰能力检测中（图 5d），常见氨基酸和无机盐离子的加入没有引起传感器荧光强度的显著变化，证明传感器不受上述物质的干扰。食品样品中含有的还原性物质可能会分解 MnO₂ 从而影响荧光检测结果，但在实际水产品中这些物质的含量较少^[28]，且在样品处理阶段利用有机溶剂萃取可实现对部分还原性物质的分离。因此，向传感器中加入 20 mg·L⁻¹ 的还原性物质对检测结果无明显干扰。且在添加 Hist 后，可以观察到传感器荧光强度的明显增强，竞争性实验的结果表明开发的传感器具有良好的抗干扰能力。

2.6 实际样品检测

为评估传感器在实际水产品中对 Hist、Cad 和 Put 检测的实用性和准确性。首先向处理后的新鲜鱼样品中加入不同浓度的 Hist、Cad 和 Put 进行回收率实验（表 2），由于样品中 Hist、Cad 和 Put 的具体比例未知，参考 Leonardo 等^[21]的计算方法，依据绘制的标准曲线将 Cad 和 Put 的浓度换算成 Hist 对应浓度作为 Hist 当量，应用 Hist 当量作为检测结果。其中 50.00 μmol·L⁻¹ Cad 对应的 Hist 当量为 45.00，50.00 μmol·L⁻¹ Put 对应的 Hist 当量为 34.11 μmol·L⁻¹。如表 2 所示，N,S-CDs@MnO₂-DAO 传感器的回收率为 93.17%~105.34%，且 RSD 值均在 5.83% 以下。说明传感器具有良好的回收率和重复性。

此外，选择鲈鱼、南美白对虾和四角蛤蜊作为待测样品，并使用 HPLC 检测验证结果的准确性。如表 3 所示，随储藏时间的增加，水产品中目标 BAs 含量随之增加。对比荧光检测和 HPLC 检测结果，其相对偏差均小于 10%，证明本研究提出的传感器对目标 BAs 的检测具有良好的准确性。同时，说明传感器检测获得的 Hist 当量值能够在一定程度上反应多种水产品的新鲜度变化。

表 1 开发的N,S-CDs@MnO₂-DAO传感器与已报道的BAs传感器的性能对比

Table 1 Performance comparison of the N,S-CDs@MnO ₂ -DAO sensor with the reported BAs sensors					
目标 BAs	传感器	线性范围/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOD 值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	标准曲线斜率	参考文献
Hist	g-C ₃ N ₄	5~800	2.34	0.002 8	[24]
	CB-Ni ²⁺ @CDs	0~1 000	86.00	1.026	[25]
	N-CDs	30~1 000	10.11	2.453 7	[26]
Cad 和 Put	SDS-AgNPs	Cad: 58.7~137.0; Put: 45.4~136.1	Cad: 16.04; Put: 3.79	Cad: 0.032; Put: 0.072	[27]
Hist、Cad 和 Put	N,S-CDs@MnO ₂ -DAO	0~200	Hist: 0.59; Cad: 0.65; Put: 0.85	Hist: 28.16; Cad: 25.68; Put: 19.54	本文

表 2 新鲜鱼样品中Hist、Cad和Put加标回收率的检测

Table 2 Determination of recovery rates of Hist, Cad and Put in fresh fish samples						
添加量/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)			预期 Hist 当量值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测 Hist 当量值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率 /%	RSD/%
Hist	Cad	Put				
50	0	0	50.00	50.56	101.12	3.57
0	50	0	45.00	47.40	105.34	2.43
0	0	50	34.11	34.78	101.97	5.83
50	50	0	95.00	98.28	103.45	1.62
50	0	50	84.11	80.82	96.13	1.46
0	50	50	79.11	73.70	93.17	0.91
50	50	50	129.11	120.73	93.51	5.29

表 3 实际水产品中Hist、Cad和Put含量的荧光测定及与HPLC结果的对比

Table 3 Fluorescence determination of Hist, Cad and Put contents in actual seafood and comparison with HPLC results						
样品	储藏时间/h	荧光传感器		HPLC		相对偏差 /%
		浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%	
南美白对虾	0	18.29	5.34	19.43	8.24	5.87
	24	145.54	4.85	151.15	2.06	3.71
四角蛤蜊	0	11.64	5.11	12.88	6.84	9.63
	24	315.50	2.07	321.05	4.30	1.73
鲈鱼	0	4.47	6.03	4.85	7.64	7.84
	24	68.29	1.71	68.19	5.11	0.15

3 结论

本文提出了一种基于 N,S-CDs@MnO₂-DAO 荧光生物传感器检测水产品中目标 BAs 的新方法。该方法利用 BAs 的氧化产物 H₂O₂ 分解 MnO₂ 从而使 N,S-CDs 荧光恢复,实现了对水产品中 Hist、Cad 和 Put 的灵敏、准确检测。其中传感器对 Hist、Cad 和 Put 的检测线性范围均为 0~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,检出限分别为 0.59、0.65 和 0.85 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在实际水产品中的检测回收率达到 93.17%~105.34%。综上所述,开发的 N,S-CDs@MnO₂-DAO 传感器具有在实际水产品中定量检测 Hist、Cad 和 Put 的潜力,有望应用于水产品品质评价和安全控制领域。

参考文献

[1] WANG Y B, BAO X Y, WANG F F, et al. Dynamic detection of biogenic amines as a quality indicator and their relationship with free amino acids profiles in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(2): 254-260.

[2] YU J, YUE Y T, ZHANG J R, et al. Advances in technologies to detect histamine in food: principles, applications, and prospects [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 146: 104385.

[3] 汪开银,熊丽莎,陈斌,等.水产品中组胺快速检测的方法研究[J].食品安全导刊,2024,3:71-77.

[4] 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.

[5] SHI N, LI W, LIU Y, et al. One-pot derivatization/magnetic solid-phase

- extraction combined with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for rapid analysis of biogenic amines in alcoholic beverages [J]. Food Chemistry, 2024, 460: 140754.
- [6] CAO Y R, WANG X C, FENG T Y, et al. Ratiometric fluorescent nanosystem based on upconversion nanoparticles for histamine determination in seafood [J]. Food Chemistry, 2022, 390: 133194.
- [7] ZHANG J, YANG Y, ZENG L T, et al. A ratiometric fluorescence platform for on-site screening meat freshness [J]. Food Chemistry, 2024, 436: 137769.
- [8] LI X C, ZHAO S J, LI B L, et al. Advances and perspectives in carbon dot-based fluorescent probes: mechanism, and application [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2021, 431: 213686.
- [9] PENG B, WANG C J, HE X Y, et al. A smartphone-assisted ratiometric colorimetric and fluorescent probe for triple-mode determination of nitrite based on MnO₂ nanoparticles and carbon quantum dots [J]. Food Chemistry, 2023, 410: 135151.
- [10] WANG D, MENG Y, ZHANG Y, et al. A specific discriminating GSH from Cys/Hcy fluorescence nanosensor: the carbon dots-MnO₂ nanocomposites [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 367: 132135.
- [11] JIAO L, ZHANG L H, DU W W, et al. Hierarchical manganese dioxide nanoflowers enable accurate ratiometric fluorescence enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Nanoscale, 2018, 10(46): 21893-21897.
- [12] WANG K, PAN C, YANG Q, et al. Detection and quantification of biogenic amines in cephalopod using dansyl chloride pre-column derivatization-HPLC and their production [J]. Journal of Food Science, 2024, 89(5): 2909-2920.
- [13] YANG C L, DENG W P, LIU H Y, et al. Turn-on fluorescence sensor for glutathione in aqueous solutions using carbon dots- MnO₂ nanocomposites [J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2015, 216: 286-292.
- [14] WANG S W, ZANG W, PENG M J, et al. Multicolor detection of glutathione by manganese dioxide nanosheets and gold nanotetrapods based on an anti-etching mechanism [J]. Talanta, 2024, 268: 125366.
- [15] WU M Y, LI J R, WU Y Z, et al. Design of a synthetic strategy to achieve enhanced fluorescent carbon dots with sulfur and nitrogen codoping and its multifunctional applications [J]. Small, 2023, 19(42): 2764-2775.
- [16] MA H, LIU X Y, WANG X D, et al. Sensitive fluorescent light-up probe for enzymatic determination of glucose using carbon dots modified with MnO₂ nanosheets [J]. Microchimica Acta, 2017, 184(1): 177-185.
- [17] XU A Y, MCGILLIVRAY D J, DINGLEY A J. Active antibacterial coating of cotton fabrics with antimicrobial proteins [J]. Cellulose, 2021, 28(12): 8077-8094.
- [18] 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 & Bioelectronics, 2021, 191: 113460.
- [19] ALI R, ALSHAMAN R, ALBALAWI A S, et al. Fluorometric detection of quinolones via AIE and FRET with terbium-doped carbon dots and copper nanoclusters [J]. Food Chemistry, 2025, 465: 142076.
- [20] BARDSLEY W G, HILL C M, LOBLEY R W. A reinvestigation of the substrate specificity of pig kidney diamine oxidase [J]. The Biochemical Journal, 1970, 117(1): 169-176.
- [21] LEONARDO S, CAMPÀS M. Electrochemical enzyme sensor arrays for the detection of the biogenic amines histamine, putrescine and cadaverine using magnetic beads as immobilisation supports [J]. Microchimica Acta, 2016, 183(6): 1881-1890.
- [22] KETTNER L, SEITL I, FISCHER L. Evaluation of porcine diamine oxidase for the conversion of histamine in food-relevant amounts [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(3): 843-852.
- [23] SÁNCHEZ-PÉREZ S, COMAS-BASTÉ O, COSTA-CATALA J, et al. The rate of histamine degradation by diamine oxidase is compromised by other biogenic amines [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 897028.
- [24] LIN X, HONG C, LIN Z, et al. Rapid detection of histamine in fish based on the fluorescence characteristics of carbon nitride [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 112: 104659.
- [25] LIU X Y, KANG S, ZHU L J, et al. Ratiometric fluorescent test strips based on CB-Ni²⁺@CDs probes for visual detection of histamine [J]. Food Chemistry-X, 2024, 22: 101522.
- [26] ZHANG X R, WANG J, HASAN E, et al. Bridging biological and food monitoring: a colorimetric and fluorescent dual-mode sensor based on N-doped carbon dots for detection of pH and histamine [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 470: 134271.
- [27] GHOTO S A, KHUHAWAR M Y. Silver nanoparticles for a colorimetric determination of putrescine and cadaverine in biological samples [J]. Analytical Sciences, 2021, 37(2): 267-274.
- [28] CHENG H, MEI J, XIE J. Analysis of changes in volatile compounds and evolution in free fatty acids, free amino acids, nucleotides, and microbial diversity in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) fillets during cold storage [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(5): 2959-2970.