

超高效液相色谱法测定不同品种桃果酒中 8种生物胺含量

李湘楠¹, 梅涌现², 张晓晴¹, 吕真真¹, 张春岭¹, 焦中高^{1*}

(1. 中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009; 2. 驻马店市农产品质量安全检测中心, 驻马店 463000)

摘要: 目的 建立一种检测桃果酒中生物胺的超高效液相色谱法, 并对不同品种桃果酒的生物胺组成与含量进行测定。**方法** 样品采用丹磺酰氯衍生, 乙酸乙酯液-液萃取, Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 分离, 柱温 35°C, 乙腈-0.1% 乙酸水溶液作流动相, 流速 0.2 mL/min, 梯度洗脱, 紫外检测波长 254 nm, 外标法定量。**结果** 柱前丹磺酰氯衍生超高效液相色谱-紫外法可在 16 min 内完成色胺、β-苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺 8 种生物胺的测定, 在 1.0~50.0 mg/L 范围内, 8 种生物胺的峰面积与其质量浓度具有良好的线性关系, 相关系数 $r^2 > 0.999$, 检出限在 15.76~21.43 μg/L 之间, 定量限在 53.58~71.07 μg/L 之间; 日内精密度在 0.85%~3.31% 之间, 日间精密度在 1.02%~4.36% 之间; 加标回收率在 89.71%~106.16% 之间。10 个品种桃果酒中均可检测到 8 种生物胺, 其中以色胺、腐胺含量较高, 而酪胺、精胺含量较低。白凤、武汉 2 号桃果酒中生物胺总胺含量较高, 而春蜜、中桃绯玉桃果酒中总胺含量较低。**结论** 该方法快速简便、灵敏高效、准确度高、重现性好, 可用于桃果酒中生物胺的分析检测。不同品种桃果酒的生物胺组成与含量差异较大, 选择适宜的原料品种有助于控制桃果酒中生物胺含量。

关键词: 超高效液相色谱法; 生物胺; 桃果酒

Determination of 8 kinds of biogenic amines in different varieties of peach wines by ultra performance liquid chromatography

LI Xiang-Nan¹, MEI Yong-Xian², ZHANG Xiao-Qing¹, LV Zhen-Zhen¹,
ZHANG Chun-Ling¹, JIAO Zhong-Gao^{1*}

(1. Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, China;
2. Testing Center for Agro-product Quality and Safety of Zhumadian, Zhumadian 463000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of biogenic amines in peach wines by ultra performance liquid chromatography, and analyze the composition and content of biogenic amines in different varieties peach wines. **Methods** The samples were derivatized by dansyl chloride and then extracted with ethyl acetate liquid-liquid extraction, separated by Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) under 35°C, with the acetonitrile-0.1% acetic acid aqueous solution as mobile phase at a flow rate of 0.2 mL/min. Ultraviolet detection

基金项目: 河南省重点研发计划与推广专项(科技攻关)(212102110021)、中国农业科学院科技创新工程专项项目(CAAS-ASTIP-2021-ZFRI)

Fund: Supported by the Henan Province Key Research and Development and Promotion Projects (212102110021), and the Agricultural Science and Technology Innovation Program of Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2021-ZFRI)

*通信作者: 焦中高, 博士, 研究员, 主要研究方向为果品营养与保鲜加工。E-mail: jiaozhonggao@caas.cn

*Corresponding author: JIAO Zhong-Gao, Ph.D, Professor, Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hanghai East Road, Guancheng District, Zhengzhou 450009, China. E-mail: jiaozhonggao@caas.cn

wavelength was 254 nm, and external standard method was performed for the quantification. **Results** Eight kinds of biogenic amines including tryptamine, β -phenylethylamine, tyramine, putrescine, cadaverine, histamine, spermine, and spermidine were determined by pre-column derivatization using dansyl chloride combined with ultra performance liquid chromatography-ultraviolet spectrophotometry within 16 min, the peak areas of 8 kinds of biogenic amines had good linear relationships with mass concentrations in the range of 1.0–50.0 mg/L, with the correlation coefficient $r^2 > 0.999$, the limits of detection and quantification ranged at 15.76–21.43 and 53.58–71.07 $\mu\text{g/L}$, respectively, and the intra-day precision and inter-day precision ranged at 0.85%–3.31% and 1.02%–4.36%, respectively; the recoveries ranged at 89.71%–106.16%. All the 8 kinds of biogenic amines could be detected in the different varieties peach wine samples. Among which, tryptamine and putrescine showed higher levels in peach wine samples, while tyramine and spermine showed lower levels in most samples. Peach wines made from 2 cultivars of Biafeng and Wuhan had higher levels of biogenic amines, whereas Chunmi and Zhongtaofeiyu peach wines showed lower levels of biogenic amines than other varieties. **Conclusion** This method is rapid, simple, sensitive, efficient, accurate and reproducible, and can be used for the determination of biogenic amines in peach wines. There is great difference in biogenic amine profiles among peach wines made from different varieties, so selection of suitable variety of peach may be a helpful approach to control the content of biogenic amines in peach wine.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography; biogenic amine; peach wine

0 引言

生物胺(biogenic amines, BAs)是一类具有生物活性的低分子量含氮有机化合物的总称,主要包括腐胺、尸胺、精胺、亚精胺、酪胺、 β -苯乙胺、色胺、组胺等,通常由氨基酸通过脱羧反应生成^[1-2]。作为生物体内正常存在的活性成分,可参与调节遗传物质和蛋白质的生物合成、免疫反应、炎症反应、肠道功能及神经传导等多种生理过程,对维持机体正常生理功能具有重要作用^[2]。然而,当体内生物胺含量过高时,则会产生中毒反应,如皮疹、头痛、出冷汗、恶心呕吐、心动过速、血压异常、呼吸紊乱及消化障碍等,一些生物胺如腐胺、尸胺、酪胺等还可与亚硝酸盐反应生成致癌物质亚硝胺,严重影响人体健康^[3-5]。

生物胺广泛存在于肉制品、乳制品、水产品和酒类等各类食品中,多在加工和贮藏过程中形成,原料质量、加工工艺、贮藏条件及贮藏时间等均可对其中的生物胺含量产生影响^[2-5]。果酒是以新鲜的果实或果汁为原料,经酵母等微生物发酵形成的一种含酒精发酵食品。在果酒酿造过程中,由于酵母、乳酸菌等微生物产生的氨基酸脱羧酶的作用,使发酵醪中游离的氨基酸发生脱羧反应生成相应的生物胺,从而造成果酒中生物胺的积累,对果酒安全卫生水平产生不利影响^[6-7]。果酒中的乙醇及乙醛可抑制人体肝脏中单胺氧化酶和二胺氧化酶的活性,从而阻止对摄入生物胺的代谢,造成生物胺对机体的毒性加强,因此对果酒产品中生物胺进行严格控制尤其重要^[8]。目前对葡萄酒中生物胺的种类及含量、影响因素及控制已有较多研究^[6-8],但对于桃果酒中生物胺的研究较少涉及。

为了对葡萄酒中微量的生物胺进行准确、快速分析,国内外众多研究者针对葡萄酒复杂的基质组成和理化特性,开发了多种适合于葡萄酒中生物胺定性定量分析方法,主要包括高效液相色谱法^[9-11]、薄层色谱法^[12]、毛细管电泳法^[13]等,其中尤以柱前衍生-高效液相色谱法最为常见。沈念原等^[9]采用丹磺酰氯衍生结合高效液相色谱-紫外法在 35 min 内完成了葡萄酒中 8 种生物胺的分析。PROESTOS 等^[10]采用丹磺酰氯对样品进行柱前衍生,固相萃取后利用高效液相色谱-荧光法可在 25 min 内实现葡萄酒中 9 种生物胺的检测。LIU 等^[11]分别对衍生和萃取工艺进行优化,进一步采用高效液相色谱-荧光法在 37 min 内完成了葡萄酒中 8 种生物胺的测定,检出限和定量限分别达 0.001~0.050 和 0.005~0.167 mg/L。超高效液相色谱法(ultra performance liquid chromatography, UPLC)是在高效液相色谱基础上发展起来的一种新型分离技术,该方法基于小颗粒填料技术,大幅减小了系统体积,与传统的高效液相色谱法相比具有分离速度快、分辨率高、溶剂消耗少等优点,因此在食品成分分析与安全检测中也得到了广泛的应用^[14-18]。UPLC 也常应用于葡萄酒中生物胺的检测^[19-21],前期研究表明,不同品种桃果酒的理化特性、营养成分及感官品质等均存在较大差别^[22],这些基于葡萄酒基质特性的生物胺检测技术应用与其他果酒还需要进一步的优化和验证。

为进一步明确原料品种对桃果酒中生物胺组成及含量的影响,本研究通过对衍生化、萃取和色谱条件的优化,建立一种灵敏、准确、高效的桃果酒中生物胺的柱前衍生超高效液相色谱分析方法,并对不同品种桃果酒的生物胺组成与含量进行测定,以明确不同品种桃果酒生物胺组成的差异性,为桃果酒加工原料的选择与品质提升提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桃果酒样品, 共 10 个品种, 包括春蜜、霞脆、中蟠桃 10 号、大红袍、白凤、NJC83、武汉 2 号、中桃绯玉、大久保、黄金蜜 5 号, 每个品种 3 个样品重复, 制备方法参见文献[22]。

色胺盐酸盐(纯度>99%)、 β -苯乙胺盐酸盐(纯度>98%)、腐胺二盐酸盐(纯度>98%)、尸胺二盐酸盐(纯度>98%)、组胺二盐酸盐(纯度>99%)、酪胺盐酸盐(纯度>98%)、亚精胺三盐酸盐(纯度>97%)、精胺四盐酸盐(纯度>97%)、丹磺酰氯(纯度>99%)(美国 Sigma 公司); 丙酮、乙腈、乙酸(色谱纯, 北京迪马科技有限公司); 乙醚、乙酸乙酯(色谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 碳酸氢钠、氢氧化钠、谷氨酸钠、氯化钠(分析纯, 成都科隆化学有限公司); 盐酸(分析纯, 烟台市双双化工有限公司); 实验用水均由 Milli-Q Academic 超纯水机制备。

1.2 仪器与设备

Waters ACQUITY H UPLC CLASS 超高效液相色谱仪(配紫外检测器, 美国 Waters 公司); GL224I-1SCN 万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); XMTD-8222 数显恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); MX-S 涡旋振荡器(北京大龙兴创实验仪器有限公司); JC-S24 氮吹仪(青岛聚创环保设备有限公司); KQ-250DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q Academic 超纯水机(美国 Millipore 公司); Avanti JXN-30 高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

参照 GB 5009.208—2016《食品安全国家标准 食品中生物胺的测定》进行标准溶液的配制。

1.3.2 衍生化处理

参考 GB 5009.208—2016 并略做改动。以丹磺酰氯为衍生试剂, 在衍生试剂质量浓度 9 mg/mL、碳酸氢钠-氢氧化钠缓冲液 pH 为 11、衍生温度 60°C、衍生化处理时间 15 min 条件下进行衍生化处理, 以乙酸乙酯作萃取溶剂。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)。流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 0.1%乙酸水。柱温 35°C, 流速 0.2 mL/min, 进样量 2 μ L, 紫外检测波长 254 nm。梯度洗脱程序(A 相): 0~7 min, 60%; 7~7.1 min, 60%~70%; 7.1~11 min, 70%~80%; 11~12 min, 80%~85%; 12~13 min, 85%~100%; 13~14 min, 100%; 14~15 min, 100%~60%; 15~16 min, 60%。

1.3.4 数据处理

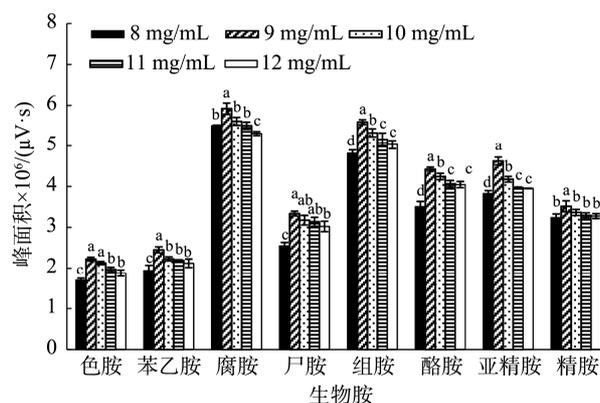
采用 Waters 超高效液相色谱仪信息管理平台软件

Empower 进行色谱图分析与计算, Excel 软件进行数据的计算和作图, SPSS 25.0 统计分析软件进行差异显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 衍生条件的选择

2.1.1 不同质量浓度衍生剂对 8 种生物胺衍生效果的影响
丹磺酰氯质量浓度分别为 8、9、10、11、12 mg/mL 时, 在温度 60°C、缓冲液 pH 11 条件下将生物胺混合标准品进行衍生化反应 15 min, 萃取后进行 UPLC 分析, 结果见图 1。由图 1 可知, 丹磺酰氯质量浓度对生物胺衍生效果影响较大。在丹磺酰氯质量浓度为 9 mg/mL 时, 8 种生物胺响应值均为最高, 且苯乙胺、腐胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺响应值与其他质量浓度下的响应值具有显著性差异, 因此本研究选择丹磺酰氯衍生试剂的质量浓度为 9 mg/mL。



注: 同一种生物胺不同字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

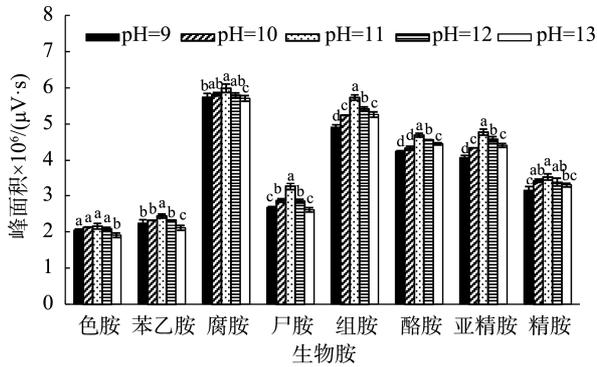
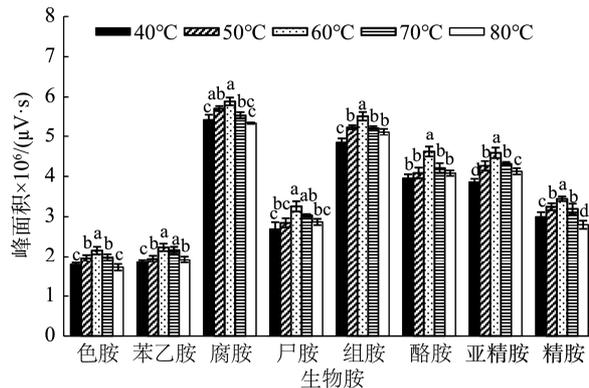
图 1 不同衍生剂质量浓度对 8 种生物胺峰面积的影响($n=3$)
Fig.1 Effects of derivatizing agent mass concentrations on the peak areas of 8 kinds of biogenic amines ($n=3$)

2.1.2 不同缓冲液 pH 对 8 种生物胺衍生效果的影响

丹磺酰氯质量浓度为 9 mg/mL、反应温度 60°C、缓冲液 pH 分别为 9、10、11、12、13 时将生物胺混合标准品进行衍生化反应 15 min, 萃取后进行 UPLC 分析, 结果见图 2。由图 2 可知, pH 为 11 时, 8 种生物胺响应值均为最高, 且苯乙胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺响应值与其他 pH 条件下的响应值具有显著性差异, 因此, 本研究选择缓冲液 pH 为 11。

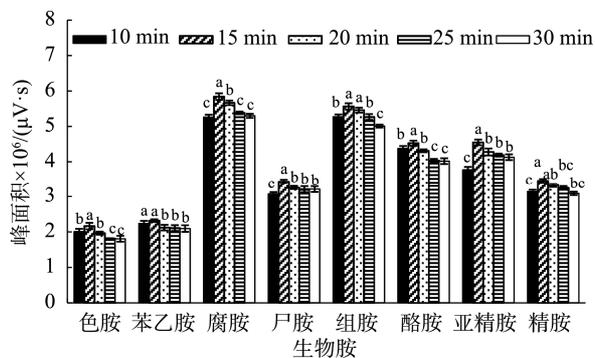
2.1.3 不同温度对 8 种生物胺衍生效果的影响

丹磺酰氯质量浓度为 9 mg/mL、缓冲液 pH 为 11、分别在 40、50、60、70、80°C 条件下将生物胺混合标准品进行衍生化反应 15 min, 萃取后进行 UPLC 分析, 结果见图 3。由图 3 可知, 在温度为 60°C 时, 8 种生物胺响应值均为最高, 且色胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺的响应值与其他温度下的响应值具有显著性差异, 因此本研究选择反应温度为 60°C。

图 2 不同缓冲液 pH 对 8 种生物胺峰面积的影响($n=3$)Fig.2 Effects of buffer pH on the peak areas of 8 kinds of biogenic amines ($n=3$)图 3 不同反应温度对 8 种生物胺峰面积的影响($n=3$)Fig.3 Effects of different reaction temperatures on the peak areas of 8 kinds of biogenic amines ($n=3$)

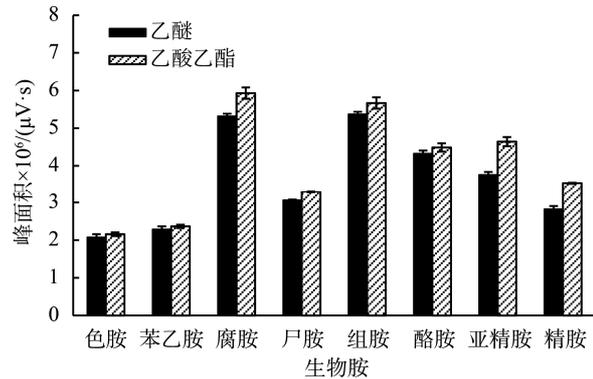
2.1.4 不同反应时间对 8 种生物胺衍生效果的影响

丹磺酰氯质量浓度为 9 mg/mL, 缓冲液 pH 为 11, 在 60°C 条件下分别将生物胺混合标准品进行衍生化反应 10、15、20、25、30 min, 萃取后进行 UPLC 分析, 结果见图 4。由图 4 可知, 反应时间为 15 min 时, 8 种生物胺响应值均为最高, 且色胺、腐胺、尸胺、酪胺、亚精胺在衍生时间为 15 min 时的响应值与其他衍生时间值具有显著性差异, 因此本研究选择反应时间为 15 min

图 4 不同反应时间对 8 种生物胺峰面积的影响($n=3$)Fig.4 Effects of different reaction times on the peak areas of 8 kinds of biogenic amines ($n=3$)

2.1.5 不同萃取试剂 8 种生物胺萃取效果的影响

将生物胺混合标准品溶液衍生化处理后, 分别用乙醚和乙酸乙酯萃取, 然后进行 UPLC 分析, 结果如图 5 所示。两种萃取试剂均可将生物胺萃取出来, 但乙酸乙酯的萃取效果略优于乙醚, 且考虑到乙醚的毒性较大, 因此本研究选取乙酸乙酯作为生物胺的萃取试剂。

图 5 不同萃取试剂对 8 种生物胺峰面积的影响($n=3$)Fig.5 Effects of different extracting agents on the peak areas of 8 kinds of biogenic amines ($n=3$)

2.2 色谱条件的选择

2.2.1 流动相的选择

本研究对比了甲醇和乙腈做流动相对生物胺的分离效果, 发现乙腈作为流动相分离效果更好, 但峰形有拖尾现象, 可能是因为样品经衍生后溶液体系呈碱性, 故在超纯水中加入乙酸改善, 拖尾现象消失, 峰形更加尖锐。因此, 流动相选用乙腈(A)-0.1%乙酸水(B)。

2.2.2 洗脱程序的选择

流动相比比例的调节需遵循“由强到弱、三倍原则、粗调微调”3 个原则。本研究首先采用 90%乙腈、80%乙腈、70%乙腈、60%乙腈、50%乙腈对生物胺混合标准溶液进行等度洗脱, 结果发现, 当乙腈比例为 60%时, 8 种生物胺全部出峰。据此, 在乙腈比例 60%的基础上逐渐调整流动相比例进行梯度洗脱, 当分离度 $R>1.5$ 时, 将有机溶剂的改变量从 10%调整为 5%, 并据此规则逐渐降低调整率, 直至 8 种生物胺的色谱峰有效分离, 确定梯度洗脱程序见 1.3.3。该条件下 8 种生物胺在 16 min 内均可以有效分离出来, 且峰形良好、分离度高, 达到了基线分离(图 6), 图 7 所示为桃果酒样品在该条件下的 UPLC 色谱图。8 种生物胺都可在桃果酒样品中检测到, 而且峰形较好、分离度高、受杂质干扰少, 说明该条件可以用于桃果酒样品检测。

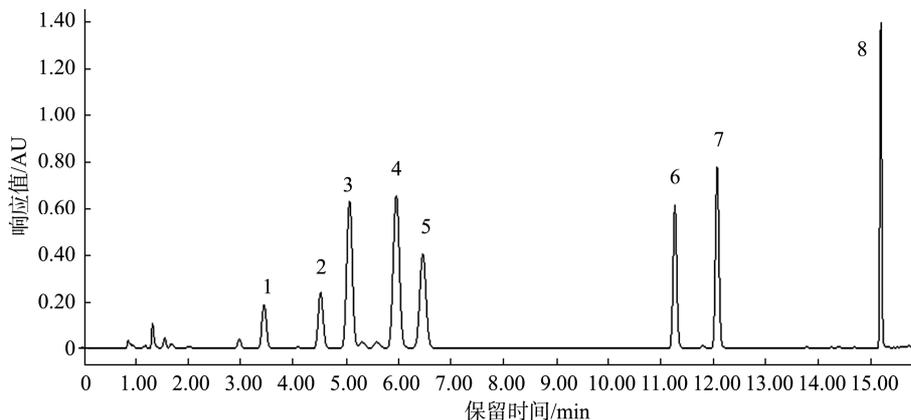
2.3 方法学考察

2.3.1 线性方程、检出限与定量限

分别配制 1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0 mg/L 的

生物胺混合标准溶液, 经衍生化处理, 在优化的色谱条件下进行 UPLC 分析, 以各生物胺的质量浓度为横坐标(X , mg/L), 以所对应的生物胺的峰面积作为纵坐标(Y), 绘制 8 种生物胺的标准曲线, 线性方程见表 1, 在 1.0~50.0 mg/L 范围内, 8

种生物胺的峰面积与质量浓度具有良好的线性关系, 相关系数 $r^2 > 0.999$ 。分别以信噪比(S/N)为 3 和 10 时确定检出限和定量限。8 种生物胺的检出限在 15.76~21.43 $\mu\text{g/L}$ 之间, 定量限在 53.58~71.07 $\mu\text{g/L}$ 之间, 灵敏度较高, 满足检测要求。



注: 1: 色胺; 2: β -苯乙胺; 3: 腐胺; 4: 尸胺; 5: 组胺; 6: 酪胺; 7: 亚精胺; 8: 精胺, 下同。

图 6 8 种生物胺混合标准溶液在最优条件下的超高效液相色谱图(50 mg/L)

Fig.6 UPLC chromatogram of 8 kinds of biogenic amine standards under the optimized conditions (50 mg/L)

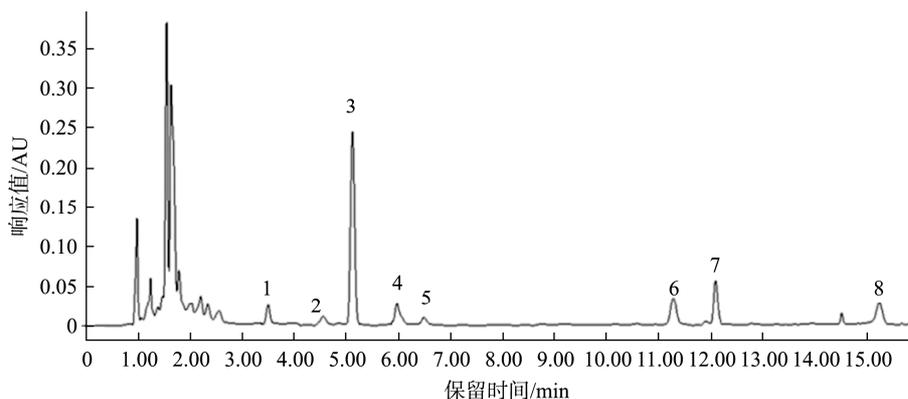


图 7 桃果酒样品在最优条件下的超高效液相色谱图

Fig.7 UPLC chromatogram of peach wine sample under the optimized conditions

表 1 8 种生物胺的线性方程、检出限和定量限

Table 1 Linear equations, limits of detection and quantification for 8 kinds of biogenic amines

生物胺	线性方程	检出限 /($\mu\text{g/L}$)	定量限 /($\mu\text{g/L}$)
色胺	$Y=40677X-2173.2$	15.76	53.58
β -苯乙胺	$Y=53455X+2353.7$	17.85	62.47
腐胺	$Y=166093X+15600$	17.16	57.21
尸胺	$Y=148887X+15568$	20.25	69.26
组胺	$Y=52488X-9116.1$	18.85	62.85
酪胺	$Y=104992X-659.91$	21.43	71.07
亚精胺	$Y=123146X+4084.6$	19.37	64.60
精胺	$Y=112117X+3589.6$	20.46	68.39

2.3.2 加标回收率与精密度

取桃果酒样品 3 份, 分别以 8 种生物胺的定量限、25、50 mg/L 的生物胺混合标准溶液为加标浓度进行加标回收实验。将以上 3 个浓度水平的加标样品 1 d 内重复进样 6 次, 计算各生物胺峰面积的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs), 记为日内精密度。将上述样品连续 6 d 重复进样, 计算 6 d 内各生物胺峰面积的 RSDs, 记为日间精密度。结果显示, 8 种生物胺的平均加标回收率在 89.71%~106.16% 之间, 日内精密度在 0.85%~3.31% 之间, 日间精密度在 1.02%~4.36% 之间, 详见表 2, 说明该方法的精密度及稳定性、重复性良好。

表 2 加标回收率和精密度($n=6$)
Table 2 Spiked recoveries and precisions ($n=6$)

基质	添加水平 (mg/L)	平均 回收率/%	日内 RSDs/%	日间 RSDs/%
色胺	方法定量限	95.45	0.85	1.02
	25	104.85	1.22	2.21
	50	96.57	1.67	1.34
β -苯乙胺	方法定量限	94.28	1.38	2.46
	25	92.57	2.01	2.19
	50	89.71	0.95	1.78
腐胺	方法定量限	103.67	1.44	3.01
	25	102.37	2.09	2.96
	50	95.37	2.22	1.90
尸胺	方法定量限	92.12	1.02	4.36
	25	106.16	1.43	3.01
	50	97.59	2.36	1.68
组胺	方法定量限	93.67	1.79	3.39
	25	91.63	2.88	1.99
	50	97.83	1.97	1.85
酪胺	方法定量限	92.86	1.35	3.76
	25	89.79	1.07	1.87
	50	101.25	2.21	1.95
亚精胺	方法定量限	98.39	1.37	3.97
	25	102.57	2.16	2.74
	50	98.23	1.78	2.03
精胺	方法定量限	92.45	2.39	2.88
	25	91.32	2.08	2.37
	50	98.68	3.31	3.08

2.4 不同品种桃果酒中生物胺组成与含量

采用优化后的方法对 10 个不同品种桃果酒样品的生物胺组成与含量进行测定, 结果见表 3。8 种生物胺均可在不同品种桃果酒样品中检测到, 10 个品种的桃果酒中 8 种生物胺及总胺含量的变异系数在 26.04%~130.75%之间, 不同品种桃果酒间含量差异较大。供试 10 个品种中, 白凤桃果酒中生物胺总含量最高, 达 20.10 mg/L, 其次为武汉 2 号、黄金蜜 5 号、大红袍、霞脆、中蟠 10 号、NJC83、大久保, 生物胺总含量在 10.80~16.90 mg/L, 春蜜和中桃绯玉桃果酒中生物胺总含量在 10 mg/L 以下。

色胺在不同品种桃果酒中含量均较高, 为 1.87~4.73 mg/L, 其中以大红袍和武汉 2 号桃果酒含量较高, 在

4 mg/L 以上, 而霞脆和中蟠 10 号桃果酒中色胺含量则较低, 在 2 mg/L 以下。 β -苯乙胺以春蜜和黄金蜜桃果酒含量较高, 分别为 1.95 和 1.78 mg/L, 而 NJC83 和中桃绯玉桃果酒则含量较少, 在 1 mg/L 以下。腐胺含量在不同品种间差异较大, 白凤桃果酒中含量高达 9.71 mg/L, 其次为 NJC83、黄金蜜 5 号、霞脆、武汉 2 号, 含量分别为 3.85、3.83、3.49、3.47 mg/L, 其他品种桃果酒含量均在 3 mg/L 以下, 其中尤以春蜜桃果酒含量为最低, 为 0.49 mg/L, 较白凤桃果酒含量低 94.96%。尸胺在黄金蜜 5 号、白凤、中蟠 10 号桃果酒中含量较高, 分别为 2.42、2.30 和 2.10 mg/L, 其他品种桃果酒均在 2 mg/L 以下, 其中尤以 NJC83 桃果酒含量为最低, 仅为 0.08 mg/L, 较黄金蜜 5 号桃果酒低 96.62%。组胺含量在不同品种桃果酒间差异相对较小, 在 1.09~2.53 mg/L 之间, 大久保桃果酒含量最高, 春蜜桃果酒含量最低。酪胺含量除武汉 2 号外, 在其他品种桃果酒中均较低(<1 mg/L)。精胺在各品种桃果酒中含量也较低, 在 0.11~1.18 mg/L 之间, 含量最高的为大久保桃果酒, 最低的是春蜜桃果酒。亚精胺在霞脆桃果酒中含量最高, 为 2.31 mg/L, 其次为中蟠 10 号、白凤、NJC83、武汉 2 号、大红袍, 含量在 1.23~1.68 mg/L 之间, 其他品种含量则较低, 均在 1 mg/L 以下, 其中尤以春蜜桃果酒中含量最低, 为 0.15 mg/L, 较霞脆桃果酒低 93.51%。

GOMEZ 等^[23]对 10 个品种葡萄汁及葡萄酒中生物胺组成进行分析, 发现葡萄汁中生物胺总含量在 3.92~24.22 mg/L 之间, 葡萄酒中生物胺总含量在 8.83~104.24 mg/L 之间, 含量较高的腐胺在葡萄汁中含量范围为 0.43~3.36 mg/L, 在葡萄酒中为 3.55~44.00 mg/L 之间, 不同品种葡萄汁及葡萄酒中各种生物胺的含量差异很大。王舒等^[24]在对不同品种樱桃酒的研究中也有类似发现。说明原料品种是影响果酒中生物胺组成及含量的重要因素。本研究通过对不同品种桃果酒中生物胺的分析, 进一步证实了这一结论。不同品种果实除自身所含生物胺的种类与含量存在差异外, 氨基酸组成与含量也可能存在一定差别, 从而在发酵过程中由于氨基酸脱羧酶的作用生成的生物胺也存在较大差异^[24-25]。此外, 果实中存在的一些酚类物质也可通过对乳酸菌生长代谢的抑制来调控生物胺的生成^[26-27], 而不同品种果实中酚类物质组成存在较大差异^[25,28-30], 从而造成不同品种果实酿制的果酒在发酵过程中生物胺的形成产生差异。关于不同原料品种桃果实组成成分的差异性及其对桃果酒中生物胺的影响有待于进一步研究。

3 结论

本研究建立了一种超高效液相色谱法测定桃果酒中色胺、 β -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺、精胺 8 种生物胺的方法。该方法采用丹磺酰氯柱前衍生, 乙

酸乙酯液-液萃取, 外标法定量, 可在 16 min 内完成桃果酒中 8 种生物胺的定量分析。10 个品种桃果酒中均可检测到 8 种生物胺, 其中以色胺、腐胺含量较高, 而酪胺、精胺含量较低。不同品种桃果酒的生物胺组成与含量差异较大,

白凤、武汉 2 号桃果酒中生物胺总含量较高, 而春蜜、中桃绯玉桃果酒中含量较低, 选择适宜的原料品种有助于控制桃果酒中生物胺含量, 本研究可为桃果酒加工原料的选择与品质提升提供参考。

表 3 不同品种桃果酒中生物胺组成与含量(mg/L)
Table 3 Composition and content of biogenic amines in different varieties of peach wines (mg/L)

品种	色胺	β -苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	酪胺	亚精胺	精胺	总胺
春蜜	3.51 ^c	1.95 ^a	0.49 ^h	1.53 ^e	1.09 ^h	0.96 ^b	0.15 ⁱ	0.11 ^j	9.78 ⁱ
霞脆	1.90 ⁱ	1.11 ^g	3.49 ^c	1.49 ^f	1.76 ^e	0.19 ^f	2.31 ^a	0.25 ^f	12.50 ^e
中蟠 10 号	1.87 ⁱ	1.01 ^h	2.75 ^e	2.10 ^e	2.12 ^c	0.19 ^f	1.68 ^b	0.42 ^d	12.10 ^f
大红袍	4.73 ^a	1.19 ^f	2.95 ^d	0.87 ^h	1.38 ^f	0.32 ^d	1.23 ^e	0.21 ^h	12.90 ^d
白凤	2.32 ^f	1.24 ^e	9.71 ^a	2.30 ^b	2.31 ^b	0.32 ^d	1.52 ^c	0.38 ^e	20.10 ^a
NJC83	2.76 ^c	0.98 ⁱ	3.85 ^b	0.08 ^j	2.01 ^d	0.26 ^e	1.38 ^d	0.23 ^g	11.50 ^g
武汉 2 号	4.57 ^b	1.43 ^c	3.47 ^c	1.78 ^d	1.23 ^g	2.50 ^a	1.36 ^d	0.55 ^b	16.90 ^b
中桃绯玉	2.20 ^g	0.66 ^j	1.88 ^f	0.94 ^g	1.78 ^e	0.16 ^g	0.97 ^f	0.20 ⁱ	8.79 ^j
大久保	3.14 ^d	1.28 ^d	1.80 ^g	0.27 ⁱ	2.53 ^a	0.12 ^h	0.50 ^g	1.18 ^a	10.80 ^h
黄金蜜 5 号	2.01 ^h	1.78 ^b	3.83 ^b	2.42 ^a	2.15 ^c	0.57 ^c	0.36 ^h	0.54 ^c	13.70 ^e
均值	2.90	1.26	3.42	1.38	1.84	0.57	1.15	0.41	12.91
变异系数	36.82	30.19	71.70	59.35	26.04	130.75	57.87	76.30	26.12

注: 同列不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$; 变异系数单位为%。

参考文献

- [1] WÓJCIK W, LUKASIEWICZ M, PUPPEL K. Biogenic amines: Formation, action and toxicity-A review [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(7): 2634–2640.
- [2] 王光强, 俞剑葵, 胡健, 等. 食品中生物胺的研究进展[J]. *食品科学*, 2016, 37(1): 269–278.
WANG GQ, YU JS, HU J, *et al.* Progress in research on biogenic amines in foods [J]. *Food Sci*, 2016, 37(1): 269–278.
- [3] SHALABY AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health [J]. *Food Res Int*, 1996, 29(7): 675–690.
- [4] OMER AK, MOHAMMED RR, AMEEN PSM, *et al.* Presence of biogenic amines in food and their public health implications: A review [J]. *J Food Prot*, 2021, 84(9): 1539–1548.
- [5] JAGUEY-HERNANDEZ Y, AGUILAR-ARTEAGA K, OJEDA-RAMIREZ D, *et al.* Biogenic amines levels in food processing: Efforts for their control in foodstuffs [J]. *Food Res Int*, 2021, 144: 110341.
- [6] RESTUCCIA D, LOIZZO MR, SPIZZIRRI UG. Accumulation of biogenic amines in wine: Role of alcoholic and malolactic fermentation [J]. *Fermentation*, 2018, 4(1): 6.
- [7] GUO YY, YANG YP, PENG Q, *et al.* Biogenic amines in wine: A review [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2015, 50: 1523–1532.
- [8] ANCÍN-AZPILICUETA C, GONZÁLEZ-MARCO A, JIMÉNEZ-MORENO N. Current knowledge about the presence of amines in wine [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2008, 48(3): 257–275.
- [9] 沈念原, 王秀芹. 高效液相色谱法测定葡萄酒中生物胺的含量[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 394–396.
SHEN NY, WANG XQ. Determination of biogenic amines in wine by high performance liquid chromatography [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2011, 32(4): 394–396.
- [10] PROESTOS C, LOUKATOS P, KOMAITIS M. Determination of biogenic amines in wines by HPLC with precolumn dansylation and fluorimetric detection [J]. *Food Chem*, 2008, 106: 1218–1224.
- [11] LIU Y, HAN FL, LIU YJ, *et al.* Determination of biogenic amines in wine using modified liquid-liquid extraction with high performance liquid chromatography-fluorescence detector [J]. *Food Anal Methods*, 2020, 13: 911–922.
- [12] ROMANO A, KLEBANOWSKI H, GUERCHE S, *et al.* Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry [J]. *Food Chem*, 2012, 135: 1392–1396.
- [13] GINTEROVA P, MARAK J, STANOVA A, *et al.* Determination of selected biogenic amines in red wines by automated on-line combination of capillary isotachopheresis-capillary zone electrophoresis [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 904: 135–139.
- [14] 郑妍, 张春岭, 刘慧, 等. UPLC 法测定猕猴桃果汁中的酚类物质含量 [J]. *果树学报*, 2018, 35(8): 1006–1015.
ZHENG Y, ZHANG CL, LIU H, *et al.* Determination of phenolic compounds in kiwifruit juice by UPLC [J]. *J Fruit Sci*, 2018, 35(8): 1006–1015.
- [15] SPACIL Z, NOVAKOVA L, SOLICH P. Analysis of phenolic compounds

- by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2008, 76(1): 189–199.
- [16] DELPINO-RIUS A, ERAS J, MARSOL-VALL A, *et al.* Ultra performance liquid chromatography analysis to study the changes in the carotenoid profile of commercial monovarietal fruit juices [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1331: 90–99.
- [17] 俞子莹, 杨爽, 葛宝坤, 等. UPLC 法快速测定葡萄酒中的防腐剂脱氢乙酸[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(1): 167–169.
YU ZX, YANG S, GE BK, *et al.* Ultra performance liquid chromatography (UPLC) method for determination of dehydroacetic acid (DHA) in wine [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(1): 167–169.
- [18] 曹美萍, 朱青, 徐苗, 等. 固相萃取-超高效液相色谱法同时测定辣椒制品中非法添加苏丹红染料[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(12): 4750–4758.
CAO MP, ZHU Q, XU M, *et al.* Simultaneous determination of Sudan dyes illegally added into chili products by solid-phase extraction-ultra performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(12): 4750–4758.
- [19] 李丽萍, 范赛, 张楠, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定红酒中 4 种生物胺含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(12): 4883–4888.
LI LP, FAN S, ZHANG N, *et al.* Determination of 4 kinds of biogenic amines in wine by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(12): 4883–4888.
- [20] TAŠEV K, IVANOVA-PETROPULOS V, STEFOVA M. Ultra performance liquid chromatography-triple quadruple mass spectrometry (UPLC-TQ/MS) for evaluation of biogenic amines in wine [J]. *Food Anal Methods*, 2017, 10: 4038–4048.
- [21] ANGULO MF, FLORES M, ARANDA M, *et al.* Fast and selective method for biogenic amines determination in wines and beers by ultra high-performance liquid chromatography [J]. *Food Chem*, 2020, 309: 125689.
- [22] 张晓晴, 吕真真, 刘慧, 等. 不同品种桃果酒品质特性与酿酒适宜性评价[J]. *果树学报*, 2021, 38(8): 1368–1380.
ZHANG XQ, LV ZZ, LIU H, *et al.* Characteristics of peach wines made from different cultivars and evaluation on their suitability for wine brewing [J]. *J Fruit Sci*, 2021, 38(8): 1368–1380.
- [23] GOMEZ HAG, MARQUES MOM, BORGES CV, *et al.* Biogenic amines and the antioxidant capacity of juice and wine from Brazilian hybrid grapevines [J]. *Plant Food Hum Nutr*, 2020, 75(2): 258–264.
- [24] 王舒, 董庆苓, 胡潇, 等. 樱桃品种对樱桃酒品质及生物胺含量的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(8): 81–85.
WANG S, DONG QL, HU X, *et al.* The effect of cherry variety on the quality and biogenic amine levels of cherry wines [J]. *Food Ferment Ind*, 2017, 43(8): 81–85.
- [25] RESTUCCIA D, SICARI V, PELLICANÒ TM, *et al.* The impact of cultivar on polyphenol and biogenic amine profiles in Calabrian red grapes during winemaking [J]. *Food Res Int*, 2017, 102: 303–312.
- [26] ALBERTO MR, ARENA ME, NADRA MCM. Putrescine production from agmatine by *Lactobacillus hilgardii*: Effect of phenolic compounds [J]. *Food Control*, 2007, 18: 898–903.
- [27] GALGANO F, CARUSO M, CONDELLI N, *et al.* Focused review: Agmatine in fermented foods [J]. *Front Microbiol*, 2012, 3: 199.
- [28] DING TY, CAO K, FANG WC, *et al.* Evaluation of phenolic components (anthocyanins, flavanols, phenolic acids, and flavonols) and their antioxidant properties of peachfruits [J]. *Sci Hort*, 2020, 268: 109365.
- [29] CANEDO-REIS NAP, GUERRA CC, SILVA LF, *et al.* Fast quantitative determination of phenolic compounds in grape juice by UPLC-MS: Method validation and characterization of juices produced with different grape varieties [J]. *J Food Meas Charact*, 2021, 15: 1044–1056.
- [30] ACERO N, GRADILLAS A, BELTRAN M, *et al.* Comparison of phenolic compounds profile and antioxidant properties of different sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties [J]. *Food Chem*, 2019, 279: 260–271.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



李湘楠, 硕士研究生, 主要研究方向为果蔬产品加工。

E-mail: 18603960044@163.com



焦中高, 博士, 研究员, 主要研究方向为果品营养与保鲜加工。

E-mail: jiaozhonggao@caas.cn