

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2016.02.007

文章编号:2095-6002(2016)02-0046-05

引用格式:李志军,李晓瑜,元晓梅. 国产葡萄酒中生物胺组成与含量分析[J]. 食品科学技术学报,2016,34(2):46-50.



LI Zhijun, LI Xiaoyu, YUAN Xiaomei. Analysis of profile of biogenic amines in commercial wines made in China[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016,34(2):46-50.

国产葡萄酒中生物胺组成与含量分析

李志军¹, 李晓瑜², 元晓梅³

(1. 中国食品发酵工业研究院 信息中心, 北京 100015;

2. 国家食品药品监督管理总局 食品安全监管三司, 北京 100053;

3. 国家食品质量监督检验中心, 北京 100015)

摘要:通过对国产葡萄酒产品中生物胺组成和含量的检测分析,了解国产葡萄酒中生物胺含量现状。采用 GB/T 5009.208—2008 方法,对国内市售的 250 个国产葡萄酒样品中 8 种生物胺(色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、精胺和亚精胺)含量进行检测。结果显示,国产葡萄酒样品中 8 种生物胺含量范围分别为色胺 0~32.78 mg/L,苯乙胺 0~48.20 mg/L,腐胺 0~46.60 mg/L,尸胺 0~9.38 mg/L,组胺 0~14.37 mg/L,酪胺 0~14.60 mg/L,精胺 0~12.73 mg/L,亚精胺 0~0.50 mg/L;葡萄酒样品中检出率最高和最低的生物胺分别为腐胺和精胺,检出率分别为 88.4% 和 50.0%,组胺检出率为 52.8%;98.8% 的葡萄酒样品中组胺含量低于 10 mg/L,98.0% 的葡萄酒样品中酪胺含量低于 10 mg/L。同其他种类葡萄酒相比,干红葡萄酒样品中生物胺含量相对较高,但与欧洲葡萄酒传统酿造国家的同类产品含量水平一致。国产葡萄酒中生物胺含量水平符合食品安全要求,具有较好的饮用安全性。

关键词:生物胺;葡萄酒;食品安全

中图分类号:TS262.6

文献标志码:A

生物胺是一类碱性有机化合物,食品中生物胺的形成与微生物有密切关系,广泛存在于葡萄酒、啤酒、黄酒等发酵酒类产品中。研究发现,部分种类生物胺对人类健康有一定影响,其中组胺对人体健康的影响最大,酪胺,腐胺和尸胺也存在一定潜在危害性,且可以增强组胺的毒性^[1-2]。根据欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)2011年公布的生物胺风险评估报告,进一步明确了组胺和酪胺是生物胺中对食品安全影响最大的潜在危害因子^[3]。发酵食品中的生物胺已成为人们关注的焦点之一。人体内含有的单胺氧化酶或二胺氧化酶具有代谢降解组胺作用,能够自行消除或降低组胺毒性。但如果人体内的单胺氧化酶或二胺氧化酶活性被乙醇等胺类氧化酶抑制剂抑制,则可提高个体对组胺的敏感性,增大组胺主导的生物胺食物中毒可

能性。生物胺还是引起葡萄酒等发酵酒“上头”的主要因素之一。葡萄酒的酿造工艺、品种及卫生状况对生物胺种类及含量影响较大,根据文献报道,目前已从葡萄酒中检出 20 多种生物胺^[4]。组胺已被公认为含酒精饮料产品的危害因子,德国、荷兰、芬兰、比利时、法国等国家已分别规定含酒精饮料中组胺含量不得超过 2,3,5,6,8 mg/L,瑞士和奥地利两国则规定含酒精饮料中组胺不得超过 10 mg/L^[1,5]。

近年来,我国加强了对葡萄酒等发酵酒类产品中生物胺检测方法和形成机理等方面的研究,制定了检测食品中生物胺的国标方法,取得了一定成果^[6-11]。但因研究工作起步晚,相关基础性研究和风险评估数据缺乏,饮料酒中生物胺限量标准制定相关工作尚未纳入食品安全标准制修订计划中。本研究通过对国产葡萄酒中生物胺的组成和含量分

析,了解国产葡萄酒中生物胺含量情况,为今后制定饮料酒中生物胺限量标准和管控葡萄酒质量安全提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 样品

从网店及北京、天津、河北、福建、广东、广西、云南、四川、河南、山西、吉林、辽宁、陕西、宁夏、甘肃、新疆、山东、江苏、浙江、上海等20个省市的商场和超市采购750 mL瓶装国产葡萄酒样品250个。其中,购于国内商场和超市的葡萄酒样品150个;购于网店的葡萄酒样品100个。

按样品标识种类分为:干红葡萄酒、干白葡萄酒、红葡萄酒、葡萄酒和桃红葡萄酒五类。

按产地分为:京津冀产区、山东产区、东北产区、东南产区、中原产区和西北产区。

1.2 仪器与试剂

组胺盐酸盐、 β -苯乙胺、酪胺盐酸盐、腐胺、尸胺、5-羟色胺、精胺、亚精胺和丹磺酰氯均购自Sigma公司;色胺盐酸盐购自Aldrich公司;1,7-二氨基庚烷购自Acros公司。

甲醇,色谱纯,美国Fisher公司;乙醚、正丁醇、三氯甲烷、HCl、NaCl、NaHCO₃和谷氨酸钠均为分析纯,北京化工厂;水为超纯水。

1100型高效液相色谱仪(配可变波长紫外检测器),美国安捷伦科技有限公司;LD4-8型离心机,北京医用离心机厂;G-560E型旋涡混合振荡器,美国Scientific Industries公司;XW-80A型旋涡混合器,上海医科大学仪器厂制造;分析天平,精确至0.0001 g,瑞士Mettler公司;Medel 868型酸度计,美国Thermo Orion公司;SYZ-550型石英亚沸高纯水蒸馏器,江苏金坛市正基仪器有限公司。

1.3 检测方法

按照国标方法测定样品中生物胺含量^[12]。

1.3.1 样品制备

取样品10 mL,加入适量内标,用NaCl饱和后,取5 mL样品于15 mL试管中,以0.1 mol/L NaOH溶液调节pH值至12.0。加入5.0 mL V(正丁醇):V(三氯甲烷)=1:1的混合液,振荡离心,取出上层有机相萃取液,再重复萃取2次,合并萃取液。取3 mL萃取液加入HCl至 $\varphi(\text{HCl})=0.02\%$,混合后40℃下氮气吹干,加入1.0 mL 0.1 mol/L HCl溶解残

留物,待衍生。

1.3.2 样品衍生

取待衍生溶液0.5 mL置10 mL具塞试管中,分别加入1.5 mL饱和NaHCO₃溶液和1.0 mL(含5 mg/mL丙酮)丹磺酰氯衍生剂,振荡混合,置60℃下反应30 min,中间振荡2次,取出加入100 μ L谷氨酸钠(含50 mg/mL饱和NaHCO₃溶液),振荡均匀,60℃保温15 min,加入1 mL超纯水,40℃水浴下用氮气除去丙酮,加入3 mL乙醚,振荡混合2 min,静置分层,取出上层有机相(乙醚层),重复萃取2次,合并萃取液,氮气吹干。加入1.0 mL甲醇溶解残留物,振荡混匀,0.22 μ m微孔滤膜过滤,滤液待测。

生物胺标准系列溶液按标准方法衍生并制作标准曲线^[12]。

1.3.3 色谱条件

色谱柱为C₁₈柱(150 mm \times 4.6 mm \times 5 μ m),紫外检测器波长254 nm,进样量20 μ L,柱温30℃,流动相A为甲醇、B为超纯水,流速1.5 mL/min。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序表

组成	Tab. 1 Gradient elution program								%
	t/min								
	0	7	14	20	27	30	35	36	45
流动相 A	55	65	70	70	90	100	100	55	55
流动相 B	45	35	30	30	10	0	0	45	45

1.4 数据分析方法

本文数据采用Excel进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 国产葡萄酒中生物胺含量总体情况

250个国产葡萄酒样品中8种生物胺含量检测结果见表2。生物胺中腐胺检出率最高(88.4%),其次为酪胺(84.8%)和色胺(82.8%),精胺检出率最低(50%),组胺检出率为52.8%。葡萄酒样品中的8种生物胺总量在0~65.90 mg/L之间,均值为13.15 mg/L。

2.2 国产葡萄酒中生物胺含量分布情况

组胺和酪胺是可引起食物中毒的主要生物胺,尤以组胺最为重要。研究者认为酒精饮料中2~10 mg/L的组胺,10~80 mg/L的酪胺为安全界限^[6]。

国产葡萄酒中组胺和酪胺含量分布情况见表3。

表2 国产葡萄酒中生物胺含量测定结果
Tab.2 Detection results of biogenic amines in wines made in China

生物胺	含量范围/ (mg·L ⁻¹)	平均值/ (mg·L ⁻¹)	检出率/ %
色胺	0~32.78	2.63±4.05	82.8
苯乙胺	0~48.20	1.24±4.40	78.0
腐胺	0~46.60	5.82±7.25	88.4
尸胺	0~9.38	0.59±1.25	71.6
组胺	0~14.37	1.42±2.40	52.8
酪胺	0~14.60	1.24±2.32	84.8
亚精胺	0~12.73	0.52±1.21	73.6
精胺	0~0.50	0.05±0.09	50.0

表3 国产葡萄酒中组胺和酪胺含量分布

Tab.3 Concentration distribution of histamine and tyramine from wines made in China

生物胺 含量范围/(mg·kg ⁻¹)	组胺			酪胺		
	<i>n</i>	均值/(mg·L ⁻¹)	比例/%	<i>n</i>	均值/(mg·L ⁻¹)	比例/%
≤2	192	0.31±0.51	76.8	204	0.39±0.46	81.6
2~6	40	3.84±1.14	16.0	34	3.28±1.10	13.6
6~8	12	6.49±2.41	4.8	5	7.40±0.77	2.0
8~10	3	9.22±0.67	1.2	2	8.41±0.41	0.8
>10	3	12.42±3.56	1.2	5	12.70±1.66	2.0

n 为不同生物胺含量区域的样本量

值相对最高,其次为红葡萄酒。除腐胺外,干白葡萄酒中其他7种生物胺含量均值相对最低。

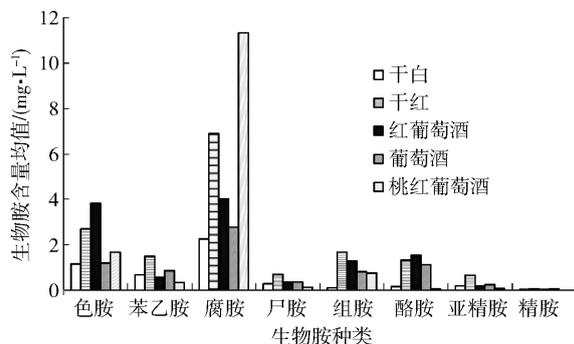


图1 不同品种葡萄酒中生物胺检测结果

Fig.1 Detection results of biogenic amines in different varieties of wine

干红葡萄酒酿造过程中,多需要经过苹果酸-乳酸发酵(malolactic fermentation, MLF)过程以降低葡萄酒酸度,改善葡萄酒口味。MLF过程中,发酵液中常伴有携带氨基酸脱羧酶的乳酸菌和酒类酒球

参考2,6,8,10 mg/L的欧洲部分国家规定的葡萄酒中组胺限量标准^[4],国产葡萄酒样品中组胺安全性合格率分别为76.8%,92.8%,97.6%和98.8%;参照10 mg/L和80 mg/L的酪胺安全界线水平^[4],国产葡萄酒样品中酪胺安全性合格率为98.0%和100%。这一结果表明国产葡萄酒的生物胺安全性较高,且与文献结果基本一致^[8]。

2.3 不同品种葡萄酒中生物胺检测结果与分析

250个葡萄酒样品根据其产品标识分为:干红葡萄酒(175个)、干白葡萄酒(22个)、红葡萄酒(37个)、葡萄酒(15个)和桃红葡萄酒(1个)五类,各类葡萄酒样品中生物胺含量检测分析结果见图1。

从分析结果可以看出,各类葡萄酒样品中,腐胺是8种生物胺中均值含量相对最高的生物胺;除色胺和腐胺外,干红葡萄酒中其他6种生物胺含量均

菌等微生物,这类微生物会代谢产生氨基酸脱羧酶,从而催化发酵液中的游离氨基酸脱羧生成相应生物胺。本研究中,仅检出3个干红葡萄酒样品的组胺含量超过10 mg/L,检出率为1.71%。

红葡萄酒和葡萄酒的2类产品多为甜型或半甜型红葡萄酒,酿造时一般也经过MLF过程;桃红葡萄酒酿造过程与干红葡萄酒相似,但发酵温度低于干红葡萄酒;干白葡萄酒酿造中无MLF过程且发酵温度较低,因而桃红葡萄酒和干白葡萄酒样品中生物胺含量低于其他种类葡萄酒样品。

2.4 不同产区葡萄酒中生物胺检测结果与分析

葡萄酒样品按其产地标识分为东北(8个)、京津冀(69个)、山东(116个)、东南(12个)、中原(12个)和西北(28个)六个产区,各产区葡萄酒样品中生物胺含量分析结果见图2。

西北产区葡萄酒样品中苯乙胺、腐胺、组胺和酪胺的含量均值相对最高,山东产区及中原产区葡萄

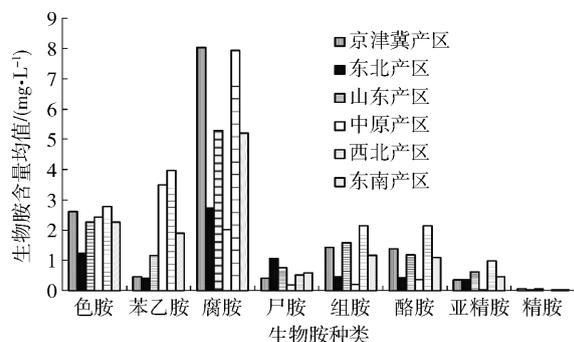


图2 不同产区葡萄酒中生物胺检测结果

Fig. 2 Detection results of biogenic amines in wines from different producing areas

酒样品中腐胺、组胺和酪胺含量均值相对较低。

京津冀和山东是我国传统的优质葡萄酒产区,

表4 我国与欧洲传统葡萄酒国家干红葡萄酒中生物胺含量水平比较

Tab. 4 Comparison of content of biogenic amines in dry red wine level at home and abroad

种类	样品/份	色胺	苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	酪胺	亚精胺	精胺
中国	175	0~32.8	0~48.2	0~46.6	0~9.4	0~14.3	0~14.6	0~12.7	0~0.5
法国 ^[13]	109	—	—	0.26~33.00	0~1.7	0~8.7	0~6.0	—	—
西班牙 ^[14]	224	—	0~16.0	0~55.0	0~14.0	0~25.0	0~19.0	—	—
葡萄牙 ^[15]	30	—	—	0.2~0.64	0.21~0.60	0~1.7	—	—	—

“—”表示未检出

中、法、西、葡四国检测结果显示,干红葡萄酒中检出含量最高的生物胺是腐胺,而尸胺、组胺、酪胺等是葡萄酒中常见生物胺。依据法国含酒精饮料中组胺含量不得超过8mg/L的限量规定,中国、法国和西班牙产干红葡萄酒均有超过该限量产品。175个国产干红葡萄酒样品中组胺含量超过该限量的样品有3个,合格率达98.3%。

国产葡萄酒样品中生物胺检测结果,与法国、西班牙和葡萄牙三国研究者对同类产品的检测结果基本一致,干红样品中生物胺含量水平相近。除个别样品外,国产干红葡萄酒样品中组胺和酪胺含量均低于10mg/L,符合葡萄酒的安全饮用要求。

3 结论

国产葡萄酒中组胺和酪胺含量处于较低水平,具有较高的生物胺安全性,除西北产区外,其他各产区葡萄酒质量安全水平比较均衡稳定。西北产区个别葡萄酒产品中生物胺潜在风险相对较高,有关部门应加强监测监控措施,将风险降低到可控范围内。国产干红葡萄酒中生物胺含量水平与欧洲葡萄酒传

“长城”、“张裕”和“王朝”等国产三大品牌葡萄酒公司主要生产基地均建于此。西北依其得天独厚的自然条件,已发展成为我国新的优质葡萄酒产区。本次调研中,组胺含量超过10mg/L的3个葡萄酒样品分别来自山东产区(1个)和西北产区(2个),检出率分别为0.95%和9.50%。结果提示,西北产区葡萄酒中生物胺潜在风险相对较高,应加强监测监控,并向相关生产企业发出食品安全风险预警。

2.5 我国与欧洲传统葡萄酒国家干红葡萄酒中生物胺含量比较分析

法国、西班牙和葡萄牙是欧洲著名的三大优质葡萄酒产区,其酿造的葡萄酒的品质和安全性广受赞誉。国产干红葡萄酒与上述3国同类产品生物胺含量水平比较结果见表4。

统酿造强国的产品基本一致,达到欧洲相关国家的葡萄酒安全要求,具有较高的饮用安全性。本文对部分国产葡萄酒中生物胺含量情况进行了比较分析,为推动我国开展发酵酒中生物胺风险评估做了有益的探索,可为今后开展饮料酒中生物胺限量标准研究提供科学参考。

参考文献:

- [1] 李志军,薛长湖,吴永宁. 反相高效液相色谱法测定食品中生物胺[J]. 食品工业科技,2005,26(4):175-178.
- [2] SHALABY A R. Significance of biogenic amines to food safety and human health[J]. Food Research International, 1996, 29(7):675-690.
- [3] European Food Safety Authority Panel on Biological Hazards. Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods [J]. EFSA Journal, 2011, 9(10):2393.
- [4] SOUFLEROS E, BARRIOS M L, BERTRAND A. Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1998, 49(3):266-278.

- [5] CAPOZZI V, RUSSO P, LADERO V, et al. Biogenic amines degradation by *Lactobacillus plantarum*: toward a potential application in wine[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012(3):1-6.
- [6] LI Zhijun, WU Yongning, ZHANG Gong, et al. A survey of biogenic amines in Chinese red wines[J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(4):1530-1535.
- [7] 李志军, 吴永宁, 刘浩, 等. 葡萄酒中生物胺多组分的UVD/FLD串联HPLC方法研究[J]. *卫生研究*, 2005, 34(5):577-580.
- [8] 李志军, 钟其顶, 邢江涛, 等. 国内消费市场葡萄酒与啤酒中生物胺污染水平的分析[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(6):191-197.
- [9] 张凤杰, 薛洁, 王异静, 等. 黄酒中生物胺的形成及其影响因素[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(2):62-67.
- [10] GUO X, GUAN X, WANG Y, et al. Reduction of biogenic amines production by eliminating the PEP4 gene in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation of Chinese rice wine[J]. *Food Chemistry*, 2015, 113(1):178-208.
- [11] CAI J, LI M, XIONG X, et al. Detection of histamine in beer by nano extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2014, 49(1):9-12.
- [12] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. 食品中生物胺含量的测定: GB/T 5009.208-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009:3.
- [13] VAZQUEZ-LASA M B, INIGUEZ-CRESPO M, GONZALEZ-LARRAINA M, et al. Biogenic amines in Rioja wines [J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1998, 49(3):229-234.
- [14] MARCOBAL A, MARTIN-ALVAREZ P J, POLO M C, et al. Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine [J]. *Journal of Food Protection*, 2006, 69(2):397-404.
- [15] MAFRA I, HERBERT P, SANTOS L, et al. Evaluation of biogenic amines in some Portuguese quality wines by HPLC fluorescence detection of OPA derivatives [J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1999, 50(1):128-132.

Analysis of Profile of Biogenic Amines in Commercial Wines Made in China

LI Zhijun¹, LI Xiaoyu², YUAN Xiaomei³

(1. Information Center, China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100015, China;

2. Department of Food Safety Supervision III, China Food and Drug Administration, Beijing 100053, China;

3. National Food Quality Supervision and Inspection Center, Beijing 100015, China)

Abstract: The profile of biogenic amines of different commercial wines made in China was analyzed to show the biogenic amine safety of Chinese wine. Eight biogenic amines (tryptamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermine, and spermidine) were analyzed in 250 wine samples made in China using the method of GB/T 5009.208—2008. In all the samples, the levels of biogenic amines, for tryptamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermine, and spermidine were 0-32.78 mg/L, 0-48.20 mg/L, 0-46.60 mg/L, 0-9.38 mg/L, 0-14.37 mg/L, 0-14.60 mg/L, 0-12.73 mg/L, and 0-0.50 mg/L, respectively. The highest detection rate and the lowest biogenic amines were putrescine and spermine, respectively 88.4% and 50.0%, histamine positive rate was 52.8%. The amount of histamine and tyramine in most of the samples (98.8% and 98.0%) was less than 10 mg/L. The content of biogenic amines in dry red wine samples were relatively higher than that of other wine samples, but it was still similar with that in wines from Europe traditional wine making countries. It could be concluded that the content of biogenic amines in wines made in China meet the food safety requirements, and they have drinking safety.

Key words: biogenic amine; wine; food safety

(责任编辑:李 宁)