

蛇龙珠葡萄酒酒龄花青素高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱研究

张军翔^{1,2}, 冯长根¹, 李 华³

(¹ 北京理工大学机电工程学院, 北京 100081; ² 宁夏大学农学院, 银川 750021; ³ 西北农林科技大学葡萄酒学院, 杨凌 712100)

摘要: 【目的】建立葡萄酒酒龄花青素 HPLC 指纹图谱, 区分鉴定不同酒龄 (年份) 蛇龙珠葡萄酒。【方法】HPLC 检测: 采用反相 C₁₈ 柱, 调整流动相 pH 1.6, 二元梯度洗脱, 检测波长 518 nm。指纹图谱建立方法: 计算 HPLC 色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, 按相对保留时间排列相对应的相对峰面积, 并编号。【结果】利用 14 个主要的色谱峰建立了蛇龙珠葡萄酒酒龄花青素 HPLC 指纹图谱, 并根据资料对葡萄酒各色谱峰成分进行了初步的定性鉴定。利用 HPLC 方法分离出 14 号峰, 该峰显著影响葡萄酒酒龄花青素指纹图谱。随酒龄的增加色谱峰相对面积出现显著变化。6 个不同酒龄 (年份) 葡萄酒的花青素指纹图谱明显不同。【结论】试验结果稳定, 效果好; 花青素 HPLC 指纹图谱可以区分不同酒龄葡萄酒, 是区分鉴定葡萄酒酒龄可行的方法。

关键词: 葡萄酒; 酒龄; 花青素; HPLC; 指纹图谱

Identification of Cabernet Gernische Wine Age by High-Performance Liquid Chromatography Anthocyanins Fingerprint

ZHANG Jun-xiang^{1,2}, FENG Chang-gen¹, LI Hua³

(¹ School of Mechanic-Electronics Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081; ² Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan, 750001; ³ College of Enologe, Northwest A&F University, Yangling 712100)

Abstract: 【Objective】The anthocyanin HPLC fingerprints of aging wines and identification of 6 different vintage of Cabernet Gernische wines were established. 【Method】HPLC analysis: Chromatographic condition was RP-C₁₈ column, pH 1.6 in mobile phases, binary solvent delivery gradient elution, and UV-Vis detection was used at 518 nm. Fingerprint: The relative reserving time and relative area of chromatography peaks were computed, and the relative area of chromatography peaks were arranged according to relative reserving time in turn. 【Result】14 main peaks were separated and used in fingerprints. The chromatography peaks were identified preliminarily. By using HPLC method, for the first time, the fourteenth peak was separated and it was found that the relative content of this peaks was relevant to the aging of wine closely. The anthocyanin HPLC fingerprints had a big difference from different vintage Cabernet Gernische wines. 【Conclution】The good reproducibility and stability were shown in this experiment. The method of anthocyanin HPLC fingerprints is feasible for distinguishing the age (vintage) of red wine.

Key words: Wine; Vintage; Anthocyanin; HPLC; Fingerprint

0 引言

【本研究的重要意义】酒龄是红葡萄酒重要的商业指标, 一般情况下, 红葡萄酒的酒龄越大代表葡萄酒的质量越好, 商业价值越高。一些商家利用这点虚假炒做葡萄酒酒龄, 牟取暴利。消费者甚至质量监督部门也是对此真假难辨。感官品尝可以鉴定葡萄酒酒

龄, 但需要高超的品尝技艺和丰富的经验 (如, 对品种和产地感观的经验), 对红酒酒龄的鉴定缺少客观依据。因此, 需要一种客观鉴定葡萄酒酒龄的方法, 为质量监督和消费者鉴定酒龄提供依据。化学分析方法因其客观性和可操作性在葡萄酒酒龄的鉴定中具有重大意义。国外特别是欧洲对葡萄酒化学鉴定进行了广泛的研究, 但在中国尚属空白。随着中国葡萄酒产

收稿日期: 2005-10-20; 接受日期: 2006-04-29

基金项目: 宁夏回族自治区科技重大攻关项目(20020011)

作者简介: 张军翔 (1971-), 男, 宁夏银川人, 副教授, 博士研究生, 研究方向为葡萄与葡萄酒。E-mail: zhangjunxiang @126.com。通讯作者冯长根 (1953-), 男, 教授, 研究方向为应用化学。Tel: 010-68912764; E-mail: cgfeng@wuma.com.cn

业的飞速发展,葡萄酒化学鉴定的研究对规范中国葡萄酒产业的发展具有重要的意义。【前人研究进展】花青素(花色素糖苷)在许多水果和蔬菜中存在。在较低的 pH 才具有颜色^[1]。红葡萄酒中的花青素是从红色或黑色葡萄果皮中浸提出来的,通常以单葡萄糖苷,双葡萄糖苷和酰基(acetyl)等衍生物的形式存在^[2]。几乎在所有的文献中,红色品种欧洲种酿造的葡萄酒中都含有翠雀素葡萄糖苷(delphinidin-3-O-glucoside)、花青素葡萄糖苷(cyanidin-3-O-glucoside)、矮牵牛葡萄糖苷(petunidin-3-O-glucoside)、甲基花青素葡萄糖苷(peonidin-3-O-glucoside)和锦葵色素葡萄糖苷(malvidin-3-O-glycoside)等花青素单葡萄糖苷^[3],称为基本花青素。基本花青素与其酰基和香豆素(p-coumaryl)衍生物统称为游离花青素。较年轻的红葡萄存在大量的游离花青素,使葡萄酒颜色呈紫红色,在葡萄酒陈酿的过程中,特别是在陈酿 1 年后,游离花青素在葡萄酒中迅速减少^[4],并形成更为稳定的花青素形式(聚合色素),葡萄酒会失去其原有的紫色和亮度,而向砖红色调转化,在老龄葡萄酒中其颜色几乎退尽,同时葡萄酒苦涩味减轻。游离花青素形成聚合色素,主要有 3 个反应机制^[5-7]:游离花青素与黄烷醇的直接反应形成聚合体,生成无色的物质和橙色的盐;乙醛介质下游离花青素与黄烷醇物质的浓缩,形成更加稳定的花青素;游离花青素与一些小分子物质的反应,如丙酮酸、乙炔基苯酚、乙醛酸形成新的花青素衍生物或络合物。不同成熟状态的葡萄酒中可能含有的花青素形式和比例不同,如成熟的葡萄酒中有较高比例新形成的聚合色素^[4-9]。葡萄酒陈酿过程中花青素变化规律和聚合色素的研究,为依据花青素分析鉴定葡萄酒酒龄奠定了基础。【本研究切入点】以上的研究都是在分析葡萄酒中花青素含量的基础上进行的,其着重点在于分析不同酒龄的葡萄酒中某种或某些物质含量的变化规律,并利用这些物质鉴定葡萄酒酒龄,需要昂贵的标样,并相对缺少整体性。化学指纹图谱技术具有整体性和模糊性,广泛应用于天然产物鉴定研究中。葡萄酒作为一种具有很强的自然属性的产品,具有许多与天然产物相同的性质,为本研究引入化学指纹图谱概念和方法对葡萄酒酒龄进行鉴定提供了依据。【拟解决的关键问题】本研究采用 HPLC 法,分析蛇龙珠葡萄酒中的花青素相对含量,建立葡萄酒酒龄指纹图谱,区分不同年份的葡萄酒,以研究花色素指纹图谱在鉴定红葡萄酒酒龄的可行性,为化学分析鉴定葡萄酒的

酒龄提供新的研究方法。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

宁夏贺兰山东麓地区 2004 年、2003 年、2002 年、2000 年、1998 年和 1994 年的蛇龙珠单品种葡萄酒。所有年份葡萄酒采用传统工艺酿造,未进行苹果酸-乳酸发酵(MLF)。2002 年、2000 年、1998 年和 1994 年葡萄酒在酒精发酵 1~2 年后装瓶,常温下贮存。2003 年、2004 年葡萄酒取自葡萄酒厂储酒罐中,2004 年 12 月份分析。另取 2004 年酿制的解百纳(赤霞珠、蛇龙珠和品丽珠混合品种酿造)葡萄酒作为检验仪器精密度和试验的重现性的材料。

分析前取样品 100 ml,经过 800 mg·L⁻¹的皂土和 80 mg·L⁻¹明胶下胶澄清处理 24 h,取清液,经 0.45 微孔滤膜过滤。

1.2 试验方 法

1.2.1 仪器及试剂 AGILENT 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),真空脱气装置、自动进样装置、VWD 紫外检测仪、真空抽滤机。

乙腈,色谱纯,KH₂PO₄和磷酸为分析纯。

1.2.2 HPLC 分析 20RBAX SB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱。参考并改进了 Bálint Berente 的方法^[8]。检测波长 518 nm;流动相:A 液:乙腈-磷酸缓冲液(v/v=5/95);B 液:乙腈-磷酸缓冲液(v/v=50/50)。磷酸缓冲液的配制:10 mmol·L⁻¹的 KH₂PO₄,用磷酸调 pH 为 1.6。配制用水为重蒸两遍蒸馏水。洗脱梯度:B 液:0.0 min 时 10%;0~30 min 时达到 45%;30~31 min 时 45%~100%;31~34 min 时保持 100%;34~35 min 时 100%到 10%,保持 5 min。柱温 50℃,进样体积 20 μl。

1.2.3 葡萄酒花青素色谱指纹图谱建立方法 将样品中各组分的相对保留时间 α 按大小依次排列,并在每个 α 下标出该组分的相对面积 S_r,比较不同样品中具有相同 α 值的 S_r。

参照文献方法^[10]计算相对保留时间和相对峰面积。

相对保留时间计算公式为:α=t_n/t_{rs}。其中 t_n为待测峰绝对保留时间,t_{rs}为参考峰的绝对保留时间。

相对峰面积计算公式为:A_r=(A_i/A_总)×100。其中 A_i为待测峰面积,A_总为样品总面积。

参考峰选择保留时间居中,面积较大的峰。本研究选择保留时间为 12.90±0.12 min 的色谱峰,即 5 号

峰为参考峰。

1.2.4 仪器精密度和试验的重现性检验 取同一处理后的葡萄酒样品, 连续进样 5 次。考察主要色谱峰的相对保留时间 α 和相对峰面积 A_r 的一致性, 并计算各自的相对标准差 (RSD)。

取同一样品原酒分 5 份, 按 1.1 处理样品, 分别进样, 考察主要色谱的相对保留时间 α 和相对峰面积 A_r 的一致性, 并计算各自的相对标准差 (RSD)。

2 结果与分析

2.1 仪器精密度和试验的重复性检验结果

按 1.2.4 方法检验仪器的精密性, 主要色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.0%, 说明仪器有很好的精密性。按 1.2.4 方法对试验方法进行重复性检验, 主要色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1%, 相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 说明试验方法有很好的重复性^[1]。图 1 为试验重复性检验的 5 次重复的高效液相色谱叠加图。

2.2 花青素色谱峰初步鉴定

图 2 是 6 个不同年份蛇龙珠葡萄酒的花青素 HPLC 图谱, 直观上可以看到有较大差异。参考文献 [3-9] 对蛇龙珠葡萄酒 14 个花青素 HPLC 色谱峰进行了初步鉴定, 以便对葡萄酒指纹图谱的分析, 结果见表 1。12 号色谱峰大多数研究认为是 malvidin-3-*p*-coumarylglucoside (锦葵色素香豆素葡萄糖苷), 但 Michael Schwarz 等^[9]在研究中认为此峰含有其它成分, 即 Pinot A, 它与葡萄酒的酒龄有关, 并在葡萄酒陈酿的过程中形成 Acetylpinot A。14 号峰在所

有对葡萄酒花青素 HPLC 分析的资料中未能见到, 试验首次分离并应用于葡萄酒酒龄的鉴定, 初步认为是一大类的聚合色素, 在 HPLC 未能得到单一成分的分

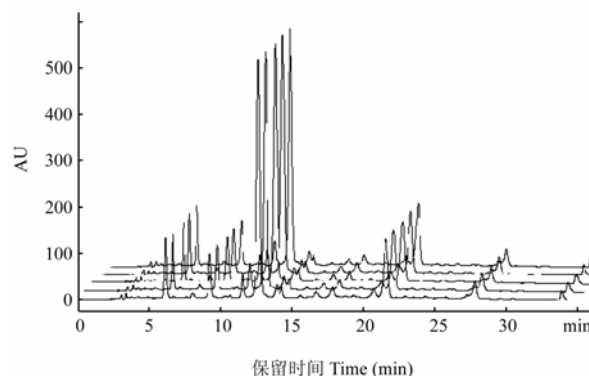


图 1 重复试验高效液相色谱图

Fig. 1 High-performance liquid chromatography of repeating test of the anthocyanins

2.3 不同酒龄葡萄酒指纹图谱

表 2 是选用 14 个主要色谱峰 (相对面积 $\geq 1\%$) 相对峰面积建立的不同酒龄蛇龙珠葡萄酒 HPLC 指纹图谱。在所有年份葡萄酒 HPLC 图谱中, 2 号峰 (Cy-3-Gl) 的相对峰面积都小于 1%, 之所以标出, 是因为此峰是葡萄 (酒) 的基本花青素。Cy-3-Gl 在新葡萄酒 (2003 年、2004 年) 中, 含量较陈年葡萄酒相对峰面积大, 可达到 0.8%。

由表 2 可以看到, 2004 和 2003 年葡萄酒指纹图

表 1 色谱峰鉴定

Table 1 Identification of chromatography peaks

色谱峰 Peak	相对保留时间 α	英文名称 English name	缩写 Code	中文名称 Chinese name
1	0.51	Delphinidin-3-glucoside	Df-3-Gl	翠雀素葡萄糖苷
2	0.64	Cyanidin-3-glucosid	Cy-3-Gl	花青素葡萄糖苷
3	0.74	Petunidin-3-glucoside	Pt-3-Gl	矮牵牛葡萄糖苷
4	0.92	Peonidin-3-glucoside	Pn-3-Gl	甲基花青素葡萄糖苷
5	1.00	Malvidin-3-glucoside	Mv-3-Gl	锦葵色素葡萄糖苷
6	1.11	Delphinidin-3-acetylglucoside	df-3-Gl-Ac	翠雀素乙酰葡萄糖苷
7	1.32	Cyanidin-3-acetylglucoside	cy-3-Gl-Ac	花青素乙酰葡萄糖苷
8	1.41	Petunidin-3-acetylglucoside	Pt-3-Gl-Ac	矮牵牛乙酰葡萄糖苷
9	1.63	Peonidin-3-acetylglucoside	Pn-3-Gl-Ac	甲基花青素乙酰葡萄糖苷
10	1.70	Malvidin-3-acetylglucoside	Mv-3-Gl-Ac	锦葵色素乙酰葡萄糖苷
11	2.14	Peonidin-3- <i>p</i> -coumarylglucoside	Pn-3-Gl-Cm	甲基花青素香豆素葡萄糖苷
12	2.18	Malvidin-3- <i>p</i> -coumarylglucoside; pinot A	Mv-3-Gl-Cm	锦葵色素香豆素葡萄糖苷; pinot A
13	2.42	Acetylpinot A		乙酰 pinot A
14	2.61	Polymeric pigments		聚合色素

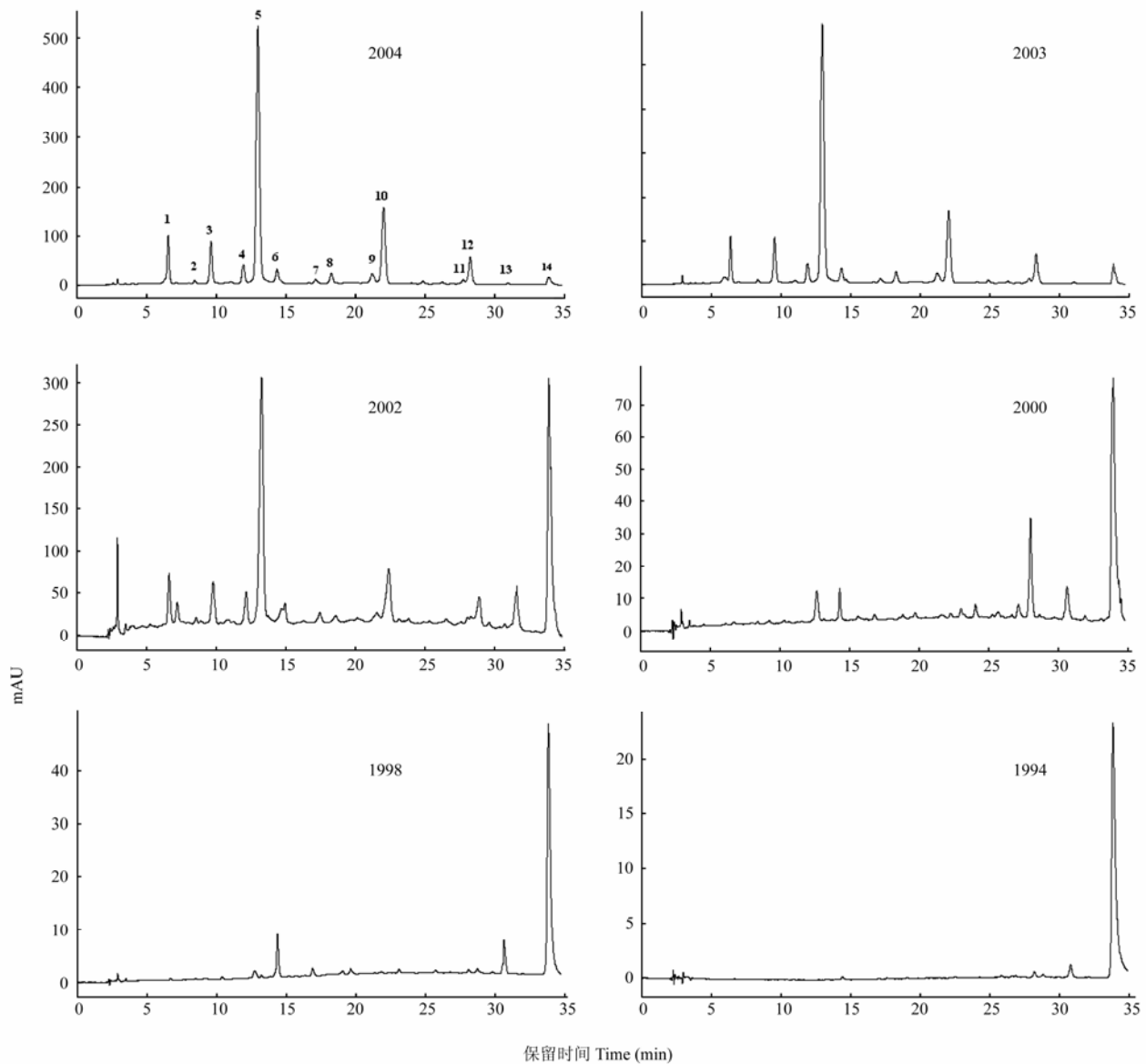


图2 不同年份蛇龙珠葡萄酒花青素 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC of the anthocyanins from different vintage of Cabernet Gernische wines

谱基本相似, 色素种类较多, 基本花青素保持了较高的比例, 尤其 5 号峰 (Mv-3-Gl) 相对峰面积最大, 是新葡萄酒最主要的色素; 10 号峰 (Mv-3-Gl-Ac) 为 5 号峰的衍生物, 这与葡萄酒发酵有关, 在葡萄酒中也保持了较高的相对峰面积; 13 号峰 (Acetylpinotion A) 在两个年份的中相对峰面积都小于 1%。2003 年与 2004 年比较, 5 号峰 (Mv-3-Gl) 和 10 号 (Mv-3-Gl-Ac) 的相对峰面积略有下降; 14 号峰 (聚合色素) 相对峰面积在两个年份的葡萄酒中较小, 2003 年较 2004 年略大。2002 年与 2003 年和 2004 年葡萄酒指纹图谱比较, 出现了较大差异, 基本花色素 (1~

5 号峰) 相对峰面积出现了下降, 特别是 5 号峰相对峰面积有了明显的下降; 部分基本花青素衍生物 (7、8、9 和 11 号峰) 消失或相对峰面积小于 1%; 6 号峰 (df-3-Gl-Ac) 相对峰面积保持不变, 12 号峰 (Mv-3-Gl-Cm 和 pinotion A) 相对峰面积略有增大, 13 号、14 号峰相对峰面积有了明显的增大。2000 年葡萄酒中 1~4 号峰消失或相对峰面积小于 1%; 5 号峰相对峰面积也大幅度下降, 只占 6%; 6 号峰相对峰面积略有升高; 10 号峰也消失或相对峰面积小于 1%; 12 峰的相对峰面积显著提高, 达到 17%; 13 号峰相对峰面积保持基本不变; 14 号峰相对峰面积继续提

高, 达到 66%。1998 年葡萄酒所有游离花青素 (基本花色素及其酰化和香豆素衍生物) 消失或相对峰面积小于 1%, 13 号峰比例保持不变; 6 号峰的相对峰面积继续提高, 达到 9%; 14 号峰相对峰面积进一步提高, 达到 83%。1994 年的葡萄酒图谱中仅仅留下 13 号和 14 号峰, 13 号峰相对峰面积较 1998 年降低, 而 14 号峰相对峰面积达到 96%。

可以看到游离花青素是蛇龙珠葡萄酒花青素的主要成分, 陈酿过程中, 大部分游离花色素相对含量逐渐下降, 但 df-3-Gl-Ac 在陈酿 4 年中含量相对含量较为稳定, 陈酿 6 年后达到最大, 在陈酿 10 年后消失。12 号峰 (Mv-3-Gl-Cm 和 Pinotion A) 在 4 年的陈酿过程中相对峰面积逐步增大, 4 年后达到最高。Michael Schwarz 等^[9]认为在陈酿前期 (2.5 年) 中 Mv-3-Gl-Cm

相对含量较大, 在后期 Pinotion A 占较大比例, 这表明陈酿过程中 12 号峰相对面积的增加主要是由于 Pinotion A 的相对含量增加的原因。Acetylpinotion A 为陈酿过程中产生的物质, 在陈酿 2 年的葡萄酒中产生, 陈酿 6 年后相对峰面积保持基本不变。聚合色素随着蛇龙珠葡萄酒的酒龄延长其比例不断增大, 1994 年葡萄酒中相对比例达到 96%。

不同酒龄的蛇龙珠葡萄酒具有相对独特的花青素 HPLC 指纹图谱, 主要的变化是随着葡萄酒的陈酿, 游离花青素比例下降, 聚合色素的比例增加。其中一些物质的相对含量, 如 df-3-Gl-Ac、Pinotion A 和 Acetylpinotion A 等也为判定葡萄酒酒龄提供了信息。通过花青素 HPLC 指纹图谱鉴定红葡萄酒酒龄是可行的方法。

表 2 不同年份 (年) 蛇龙珠葡萄酒各个色谱峰相对峰面积

Table 2 Relative area of chromatography peaks of different aging Cabernet Gernische wines (%)

峰号 Peak	相对保留时间 α	2004	2003	2002	2000	1998	1994
1	0.51	7	6	5	—	—	—
2	0.64	—	—	—	—	—	—
3	0.74	7	8	4	—	—	—
4	0.92	3	4	3	—	—	—
5	1.00	49	47	30	6	—	—
6	1.11	3	3	3	4	9	—
7	1.32	1	1	—	—	—	—
8	1.41	2	3	—	—	—	—
9	1.63	3	3	—	—	—	—
10	1.70	16	15	11	—	—	—
11	2.14	1	1	—	—	—	—
12	2.18	5	6	7	17	—	—
13	2.42	—	—	8	7	8	4
14	2.61	2	4	29	66	83	96

“—”表示未能检测到或相对比例小于 1%

“-” Express not detected or relative area of chromatography peaks < 1%

3 讨论

3.1 分析葡萄 (酒) 花青素主要方法有: 纸层析法、毛细管电泳法、HPLC 法、HPLC-MS 法等。但 HPLC 方法被广泛地应用到化学成分分析中。在本试验条件下, 葡萄酒色谱峰较多, 分离效果佳。较其它梯度分离方法^[3]分离时间短, 从而对红葡萄酒花青素进行了快速分离, 可以作为建立花青素指纹图谱较好的手段。

3.2 在参考的 HPLC 方法检测葡萄酒花青素的资料中, 没有发现对 14 号峰的检测分离和解释, 笔者认为此峰为聚合色素。Rubén Sáenz-Lopez 等^[12]在利用毛细管电泳分析葡萄酒陈酿过程中也发现了此色素峰, 判定为大类的聚合色素。可以看到 14 号峰相对峰面积显

著地影响了葡萄酒酒龄指纹图谱, 是鉴定葡萄酒酒龄的主要依据。

3.3 指纹图谱方法广泛地应用到天然产物研究中, 如中草药的真伪、产地鉴定和质量控制等方面^[13]。指纹图谱技术的优势是不需要定量测定产物或产品的各种化学成分, 而只需要对产物或产品的化学成分的含量和组成 (比例) 利用色谱等现代分析方法反映出来, 从宏观上进行分析来确定产物间的差异。指纹图谱技术的建立有可能解决产物复杂多变、质量不可控的难题。将指纹图谱方法引入葡萄酒化学鉴定中, 避免了使用昂贵的标准品, 简化了葡萄酒鉴定, 方法易于推广, 具有重要的意义。

3.4 在笔者研究的葡萄酒样品中, 由于陈酿的条件不

同,如容器和温度的不同,会对花青素的变化产生影响,特别是较高的温度会促使葡萄酒中游离花青素减少^[5],可能改变了葡萄酒酒龄指纹图谱,影响了鉴定葡萄酒真实酒龄的准确性。但笔者的方法对同一厂家的葡萄酒,特别是在商标上表明年份的红葡萄酒酒龄的区分鉴定,仍然是行之有效的方法。储藏条件对花青素指纹图谱的影响,如何更为准确地鉴定红葡萄酒酒龄,有待进一步研究。

4 结 论

4.1 本研究应用 HPLC 方法,分析了蛇龙珠葡萄酒中的花青素,较其它方法^[2,7]分离时间短,效果好,试验结果稳定,适合批量分析葡萄酒花青素。

4.2 引入中药指纹图谱的方法,建立了不同酒龄葡萄酒指纹图谱。随着葡萄酒酒龄的增大,特别 2 年以上的葡萄酒游离花青素相对含量显著降低,聚合色素相对含量增加,葡萄酒指纹图谱发生改变。对不同酒龄蛇龙珠葡萄酒指纹图谱比较分析的结果表明,不同酒龄葡萄酒具有独特的花青素 HPLC 指纹图谱,可以鉴别葡萄酒酒龄。花青素 HPLC 指纹图谱方法是鉴定红葡萄酒酒龄的可行方法。

4.3 利用 HPLC 方法分离了 14 号峰(大类聚合色素),它的相对面积受到葡萄酒酒龄(年份)的显著影响,是鉴定葡萄酒酒龄的关键峰。

References

- [1] Håkansson A E, Pardon K, Hayasaka Y, Maria de Sa and Markus Herderich Structures and colour properties of new red wine pigments. *Tetrahedron Letters*, 2003, 44: 4887-4891.
- [2] 王 华, 丁 刚, 崔福君. 葡萄酒中花色苷研究现状. 中外葡萄与葡萄酒, 2002, (2): 25-29.
Wang H, Ding G, Cui F J. The review of anthocyanins research in wine. *Sino-Overseas Grapevine and Wine*, 2002, (2): 25-29. (in Chinese)
- [3] Revilla E, García-Beneytez E, Cabello F, Martín-Ortega G, Ryan J-M. Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography A*, 2001, 915: 53-60.
- [4] Tsanova-Savova S, Dimov S, Ribarova F. Anthocyanins and color variables of Bulgarian aged red wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2002, 15: 647-654.
- [5] Gómez-Plaza E, Gil-Muñoz R, López-Roca J M, Martínez-Cutillas A, Fernández-Fernández J I. Maintenance of colour composition of a red wine during storage. Influence of prefermentative practices, maceration time and storage. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 2002, 35: 46-53.
- [6] Wang H B, Race E J, Shrikhande A J. Anthocyanin transformation in cabernet sauvignon wine during aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 7989-7994.
- [7] Mateus N, de Freitas V. Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during port wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 5217-5222.
- [8] Berente B, De la Calle García D, Reichenbacher M, Danzer K. Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high-performance liquid chromatography and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods. *Journal of Chromatography A*, 2000, 871: 95-103.
- [9] Schwarz M, Hofmann G, Winterhalter P. Investigations on anthocyanins in wines from *Vitis vinifera* cv. Pinotage: Factors influencing the formation of pinotin A and its correlation with wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52:498-504.
- [10] 曾 志, 杨东晖, 宋力飞, 杨 挺, 刘乡乡, 袁 敏, 曾和平. 高效液相色谱指纹图谱应用于板蓝根的鉴定. 分析化学, 2002, 30: 849-852.
Zeng Z, Yang D H, Song L F, Yang T, Liu X X, Yuan M, Zeng H P. The identification of *Isatis indigotica* Fort. by high-performance liquid chromatography fingerprint. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2002, 30: 849-852. (in Chinese)
- [11] 国家药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知. 中成药, 2000, 22: 671-675.
Chinese Medicine Supervisory Office. The fingerprint criterion of Chinese medicine injection (temporary). *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2000, 22:671-675. (in Chinese)
- [12] Senáz-López R, Fernández-Zurbano P, Tena M T. Analysis of aged red wine pigments by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1052: 191-197.
- [13] 杨义芳, 蔡定建. 中药指纹图谱研究概况. 中草药, 2003, 34(6):附 2-5.
Yang Y F, Cai D J. Survey in study on fingerprint spectrum of Chinese material medica. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2003, 34(6): Adding page: 2-5. (in Chinese)

(责任编辑 曲来娥)