DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2018.10.003

固相萃取-高效液相法测定黄酒中多酚

徐秋月[1,2,3,5]，周志磊[1,2,3,4,5]，毛 健[*1,2,3,4,5]，岳翠益[1,2,3,4,5]，李志威[1,2,3,4,5]

(1. 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室，江南大学，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；3. 食品安全与营养协同创新中心，江南大学，江苏 无锡 214122；4. 国家黄酒工程技术研究中心，浙江 绍兴 312000；5. 江南大学 食品生物技术研究所(如皋)，江苏 如皋 226500)

摘要：为了寻找一种更高效、富集能力更强，更具有针对性的前处理方式，解决黄酒多酚测定时存在的杂质多、目标物含量低、定量不准确的问题，采用固相萃取小柱对黄酒进行前处理，就流动相条件、固相萃取小柱类型、洗脱剂类型、洗脱剂体积等因素对9种多酚的回收率影响做了评价比较，并运用该方法对不同甜型的绍兴黄酒中多酚质量浓度进行精确测定，结果表明：采用Poly-Sery HLB SPE小柱，甲醇为洗脱剂，洗脱体积为3倍上样体积时9种多酚回收率最高，均在87.3%~103.8%之间，相对标准偏差小于3.2%。不同甜型的绍兴黄酒中多酚以儿茶素和丁香酸为主，干型黄酒、半干型黄酒中多酚质量浓度低于甜型黄酒和半甜型黄酒。该方法具有快速、简便、准确的优点，可用于黄酒等酒类的多酚测定。

关键词：固相萃取；高效液相；多酚；黄酒

中图分类号：TS 262.4　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1673—1689(2018)10—1021—07

Application of SPE-HPLC for Determination of Phenolic Compounds in Chinese Rice Wines

XU Qiuyue[1,2,3,5]，*ZHOU Zhilei*[1,2,3,4,5]，*MAO Jian*[*1,2,3,4,5]，*YUE Cuiyi*[1,2,3,4,5]，*LI Zhiwei*[1,2,3,4,5]

(1. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122; 2. School of Food and Science Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122; 3. Collaborative Innovation Center for Food Safety and Nutrition, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 4. National Engineering Research Center for Rice Wine, Shaoxing 312000, China; 5. Institute of Food Biotechnology (Rugao), Jiangnan University, Rugao 226500, China)

Abstract: In order to search for a rapid technique for the isolation of polymeric polyphenols from Chinese rice wine for solving the problem that accurately measured the polyphenols in Chinese rice wine because of the impurity interference and low target content. in this paper, the effects of recoveries for the 9 kinds of polyphenol compounds were evaluated by the condition of mobile phase and SPE cartridge types as well as the composition of eluent and the volume of eluent by a high-performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection, in the end, using this

收稿日期：2016-08-01

基金项目：国家863计划项目(2013AA102203-06)；国家自然科学基金项目(31571823，31271839)；中央高校基本科研业务专项资金项目(JUSRP11509)；江苏省博士后科研资助计划项目(1501022B)。

***通信作者**：毛　健(1970—)，男，安徽砀山人，工学博士，教授，博士研究生导师，主要从事食品生物技术研究。E-mail：biomao@263.net

引用本文：徐秋月，周志磊，毛健，等. 固相萃取-高效液相法测定黄酒中多酚[J]. 食品与生物技术学报，2018，37(10)：1021-1027.

method for determination polyphenol content in different sweet type of shaoxing Chinese rice wine for precise measurement. Results show that the recovery were between 87.3%~103.8% and the RSD less than3.2% when the Poly-Sery HLB SPE cartridges were used and methanol as eluent and the elution volume for 3 times on the sample volume . catechin and Syringic acid has the highest content in different sweet type of shaoxing Chinese rice wine,the content of polyphenol in dry type and half dry type is lower than the sweet type and half sweet type Chinese rice wine .This SPE method is simple,rapid,and accurate. It can be satisfactorily applied to the determination of polyphenol compounds in wine drinks.

Keywords: solid phase extraction,HPLC,Polyphenols,Chinese rice wine

黄酒酿造是以糯米、麦曲等为原料,在霉菌、酵母和细菌等多种微生物及其酶类共同参与条件下进行的边糖化边发酵的复杂的生物化学过程[1]。黄酒中有丰富的营养保健成分,其中多酚类物质已经成为黄酒研究的热点,因为其较强的清除自由基和抗氧化等功能性作用。酚类物质主要有类黄酮和非类黄酮 2 大类[2]。这些物质除了具有一定的生理活性之外,还对黄酒的色泽、收敛性、苦味等感官特性有贡献[3-4]。

黄酒为多菌种发酵,成品酒中含有多种大分子物质,这些物质为多酚物质的纯化、分离及测定带来很大困难。紫外分光光度法、毛细电泳一电化学方法、高效液相色谱法(HPLC 法)等方法是目前国内外报道的关于黄酒中多酚的主要检测方法[5]。叶杰等[6]利用 Folin-Cioeaheu 分光光度法测定了黄酒中总多酚类物质,该法简便、快速、准确,但只能对总多酚进行测定,无法定性和定量测定其中特定的多酚。雷萍等[7]采用毛细管电泳-电化学检测法同时分离测定了黄酒中表儿茶素、芦丁、金丝桃甙、山萘酚、绿原酸、槲皮素等多种生物活性成分的含量。但是黄酒中有还原性多酚和氧化性多酚,利用电化学的氧化性只能测定还原性多酚含量,不够准确。

目前,高效液相色谱(HPLC)法由于其更高效、更灵敏、更准确的优势已经成为定量检测酒类中多酚物质的常用方法,广泛运用到葡萄酒、苹果酒等果酒中[8-10]。近年来,也开始运用到黄酒的多酚检测中[11]。但是黄酒相对于其他单菌种发酵酒干扰杂质较多,而且多酚化合物含量较低,直接进样或者普通前处理往往无法精确定量。为了更准确地对黄酒中的多酚物质进行定性定量测定,寻找一种有效的前处理手段成为目前黄酒多酚检测的重点。目前以乙酸乙酯、乙醚作为萃取剂的液液萃取法使用广泛,然而该方法有缺乏选择性、提取时间长、有机溶剂用量多等缺点。固相萃取柱萃取与传统的液液萃取方法相比,具有萃取速度快,实验成本低,对环境的污染少,不出现乳化现象,有针对性等优点,并且操作简单,容易实现自动化[12-13]。作者通过对固相萃取柱萃取条件的选择优化建立了利用固相萃取-高效液相色谱法测定黄酒中几种多酚类物质的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

绍兴传统黄酒样品:常见市售品牌。甜型(糖质量浓度≥100 g/L)3 种,半甜型(糖质量浓度 40~100 mg/L)4 种,半干型(糖质量浓度 15~40 mg/L)4 种,干型(糖质量浓度≤15 mg/L)3 种。

1.2 仪器和试剂

仪器:Waters e2695 高效液相色谱系统: 美国 Waters 公司产品;EL3002 电子天平: 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品。

试剂:甲醇,乙腈,乙酸,乙醚,丙酮(色谱纯):购自上海安谱实验科技股份有限公司;乳酸,没食子酸,表儿茶素,儿茶素,丁香酸,原儿茶酸,芦丁,槲皮素,p-香豆酸,阿魏酸等(色谱纯):购于Sigma 公司; 实验中用水均为超纯水,Mili-Q 超纯水系统制备。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件 参考成宇峰[14]等的方法,并稍加修改。

色谱柱:Athena C18-WP(4.6 mm×250 mm,5 μm);流量:0.8 mL/min;柱温:30 ℃。检测波长:280 nm。

梯度洗脱:流动相 A:V(水):V(乙酸)=98:2;流

动相 B:乙腈。洗脱程序:0~8 min,B 体积分数为 12%;8~20 min,B 体积分数为 18%~40%;20~25 min,B 体积分数为 40%~0%。

1.3.2 标准溶液的制备 分别称取 6.2 mg 儿茶素,2.5 mg 阿魏酸、芦丁,10.0 mg 没食子酸,5.0 mg 原儿茶酸、p–香豆酸,3.1 mg 表儿茶素、槲皮素、丁香酸标样,用色谱纯甲醇定容于 10 mL 容量瓶中,配成单标溶液,各取 2 mL 单标溶液于 25 mL 容量瓶中定容,将此溶液稀释成不同质量浓度梯度的标准溶液,30 ℃保存备用。

1.3.3 标准曲线的绘制 将 1.3.2 标准储备溶液稀释成 0.25~50 mg/L 8 个不同质量浓度梯度的 9 种多酚混合标样,按上述确定的色谱条件进行测定,进样量为 10 μL,以质量浓度 x 为横坐标,峰面积 y 为纵坐标,计算得到 9 条标准曲线。

1.3.4 SPE 柱萃取方法 活化:用 5 mL 甲醇、5 mL 超纯水对固相萃取小柱进行活化;上样:取经 0.1 mol/L HCL(2 mL)调节 pH 后的 2 mL 酒样,上样,重力作用下自流;洗涤:酒样流完后取 3 倍酒样体积的超纯水冲洗小柱,弃去废液;洗脱:4 mL 甲醇将多酚类物质洗脱下来;氮吹:洗脱液经氮吹定容至 1 mL,经 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤,HPLC 测定[15–17]。

1.3.5 回收率的测定 准确量取已测得质量浓度的黄酒样品 20 mL,置于 25 mL 容量瓶中,分别准确加入一定量的多酚类化合物对照品溶液,充分振荡均匀后,按照 1.3.4“SPE 柱萃取方法”步骤处理,然后平行测定 5 次,将测得的峰面积代入回归方程,计算各多酚的质量分数,并计算出平均加标回收率。

1.3.6 统计分析 利用 Excel2013、SPSS statistics 20.0、Origin Pro 9.0 等软件进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线性质

液相条件参考成宇峰等[14]的方法,结果显示 9 种多酚能够达到基线分离且峰形较好(图 1)。按照 1.3.3 方法计算得到 9 条标准曲线,如表 1,由表中可以看出该方法 9 条曲线相关系数均大于 0.999,其检测限 LOD 均在 0.027~0.798 mg/L 之间,定量限 LQD 在 0.092~1.664 mg/L 之间,表明该方法检测灵敏度较高。

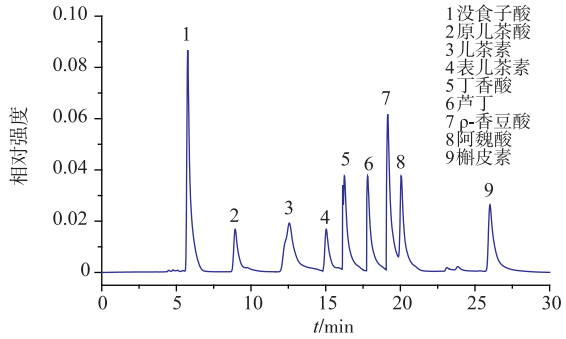


图 1 多酚标准色谱图

Fig. 1 Polyphenols standard chromatogram

2.2 固相萃取方法的优化

2.2.1 固相萃取柱类型的优化 多酚类化合物都属于强极性化合物,所以作者选用之前文献中报

表 1 工作曲线及检测限

Table 1 Regression equation and detectjon limit of 9 kinds ofphenolic compounds

化合物	标准曲线	相关系数 r	线性范围/(mg/L)	LOD/(mg/L)	LQD/(mg/L)
没食子酸	y=35 178.5x–32 171.5	0.999 4	0.781~50	0.04	0.14
原儿茶酸	y=18 343.8x–5 866.8	0.999 7	0.25~16	0.02	0.09
儿茶素	y=72 64.1x–10 575.7	0.999 1	0.625~40	0.03	0.12
表儿茶素	y=3 984.4x+452.6	0.999 1	0.312 5~20	0.19	0.65
丁香酸	y=51 666.1x+9 125.7	0.999 2	0.312 5~20	0.79	1.66
芦丁	y=8 983.9x–3 597.4	0.999 1	0.312 5~20	0.22	0.75
p–香豆酸	y=42 922.2x+5 285.2	0.999 1	0.781~50	0.33	1.10
阿魏酸	y=37 182.1x+7 255.4	0.999 1	0.391~25	0.16	0.55
槲皮素	y=13 769.6x–8 829.9	0.999 4	0.781~50	0.24	0.81

道[20-21,23] 的对极性化合物保留能力较强或者选择性较广的 4 种 SPE 小柱进行前处理操作,4 种小柱分别为:CNEBOND LC-C18 SPE 小柱、CNEBOND HC-C18 SPE 小柱、Waters OAsis HLB SPE 小柱、CNW Poly-Sery PSD SPE 小柱,其各自加标回收率结果如图 2。

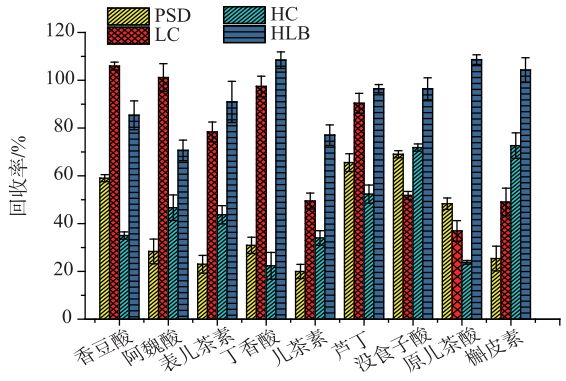


图 2 不同固相萃取小柱对 9 种多酚的加标回收率

Fig. 2 Effect of different solid phase extraction cartridge on 9 kinds of polyphenols sample added recovery

由图 2 可以看出 HC-C18、PSD 两种固相萃取小柱对 9 种多酚的回收率均偏低,除个别以外均低于 60%。Dominico A. Guillen 等[21] 曾论述过 CNWBOND HC-C18、属于最常用的硅胶基质反相 SPE 小柱,Poly-Sery PSD 的基质为一种高交联度、中性的、特殊洁净的苯乙烯/二乙烯苯共聚物,通常用于反相条件下保留含有亲水基团的疏水性化合物,这两种柱最大的特点是选择性很广,但是针对强极性化合物吸附能力不强,与作者得到的结果相符。由图 2 可以看出 LC-C18 固相小柱对 p-香豆酸、阿魏酸、表儿茶素、丁香酸、芦丁 5 种多酚的回收率在 80%~108%之间,可能是因为 CNWBOND LC-C18 含碳量比 HC-C18 低,所以具有其一定的选择性,更适用于分离极性化合物,但是 CNWBOND LC-C18 对儿茶素、没食子酸、原儿茶酸、槲皮素 4 种多酚的回收率均低于 60%;HLB 固相小柱除去对阿魏酸的回收率略偏低(70%),对其余 8 种多酚的回收率均在 88%~106%之间,这项结果与之前文献报道相符。Nuria Fontanals 等[20]研究了 SPE 柱对极性化合物的吸附作用,指出 Poly-Sery HLB SPE 作为酸性、中性、碱性化合物最通用、最广泛的吸附剂,其基质是改性的二乙烯苯聚合物,能满足所有 SPE 要求的亲水-亲脂平衡 HLB 反相吸附剂。因此,它显示出对多种不同分析物特别对极性化合物保留的特性,相对保留容量较传统硅胶基质 SPE(如 C18)高 3 倍以上。此种小柱对黄酒中多酚物质的保留能力较强,作者选择 Poly-Sery HLB 小柱作为本实验的固相萃取小柱。

2.2.2 洗脱试剂的优化 不同的洗脱溶剂对多酚物质洗脱能力不同,选择 4 种常用有机试剂作为洗脱剂,分别计算其加标回收率,结果如图 3。

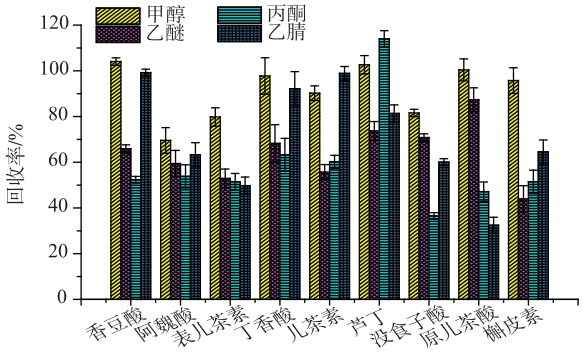


图 3 不同洗脱试剂类型对 9 种多酚的加标回收率

Fig. 3 Effect of different eluent on 9 kinds of polyphenols sample added recovery

由图 3 可以看出,4 种洗脱试剂中,乙醚和丙酮的加标回收率较低,除乙醚对原儿茶酸的回收率(85%)和丙酮对芦丁的回收率(103%)较高以外,其余均低于 70%,而且在实验中发现乙醚挥发性极强,不容易控制,所以这两种洗脱试剂均不合适。乙腈对儿茶素(103%)、p-香豆酸(102%)、丁香酸(98%)的洗脱能力都较强,但是乙腈对阿魏酸、表儿茶素、没食子酸、原儿茶酸的回收率都低于 70%;甲醇对阿魏酸的洗脱能力相较于其他几种多酚较低(74%),但是对于其他 8 种多酚的回收率均在 86%~102%之间,说明甲醇对多酚物质的洗脱能力较强,所以选用甲醇作为本实验的洗脱试剂。

2.2.3 洗脱试剂体积的优化 洗脱试剂的体积多少会影响洗脱效果,所以对洗脱剂体积进行优化。分别以 2、4、6、8、10 mL 甲醇作为洗脱剂,计算其加标回收率,结果如图 4。

由图 4 可以看出当洗脱试剂为 2 mL 时,9 种多酚的回收率除原儿茶酸(78%)以外的 8 种多酚的回收率都较低,均低于 70%,随着洗脱试剂的增加,各多酚化合物的回收率呈上升趋势,p-香豆酸、阿魏酸、表儿茶素、丁香酸、芦丁、没食子酸、原儿茶酸、槲皮素在洗脱剂体积为 6 mL 时回收率达到最大,9

种多酚回收率在 6 mL 洗脱剂时均有很大程度提高，在 89%~104%之间；儿茶素在洗脱剂体积为 8 mL 时达到最大，但相对于 4 mL 变化幅度很小,当洗脱体积大于 6 mL 时，随着洗脱试剂的体积的升高,回收率会出现小幅度下降,可能是因为在氮吹的过程中会有损失导致。鉴于以上结果,结合实验操作方便，最终选定洗脱剂体积为 6 mL 即 3 倍上样体积。

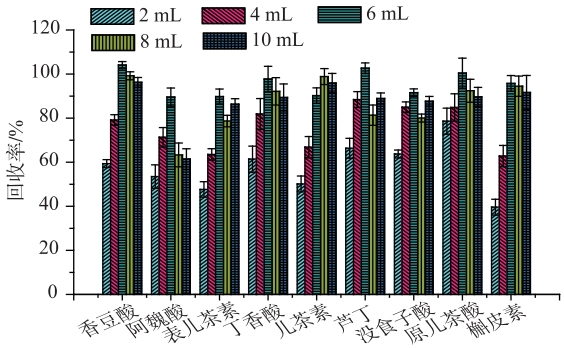


图 4　不同洗脱试剂体积对 9 种多酚的加标回收率

Fig. 4　Effect of different eluent volume on 9 kinds of polyphenols sample added recovery

2.3　回收率及精密度

根据上述优化的条件处理酒样，并按照 1.3.5 所述方法计算出该方法平均加标回收率及精密度,结果见表 2。p–香豆酸、表儿茶素、丁香酸、儿茶素、芦丁、没食子酸、原儿茶酸、槲皮素 8 种多酚的回收率均在 84.2%~103.8%之间，阿魏酸回收率当添加量为 10 mg/L 时相对较低,为 70.8%,但当添加量较少时其回收率提高为 87.3%,整体回收率较高;相对偏差 RSD 均小于 3.2%,方法准确度较高。

2.4　黄酒样品测定

运用以上优化的固相萃取条件处理黄酒样品,运用 HPLC 定量测定黄酒中的 9 种多酚。图 5(a)为未过 SPE 柱黄酒样品峰图,图 5(b)为过 SPE 柱黄酒样品峰图。对市场上采购的 14 种绍兴地区 4 种不同甜型的传统黄酒进行了多酚含量的检测,结果见图 6。

由图 5(a)可知未经过前处理的黄酒样峰图前部分杂质峰较多,且杂质峰信号高,导致目标物质峰信号较弱,不容易精确定量。由于 Poly–Sery HLB SPE 基质是改性的二乙烯苯聚合物，针对极性化合物有很强的保留特性，所以经过 SPE 柱处理之后,目标物多酚被保留下来,再用有机试剂洗脱下来并进行浓缩。经过处理之后的样品杂质物质明显减少,而目标物质峰分离较好,信号较强,从而可以完成准确定量,说明固相萃取是一种有效的黄酒前处理手段,可以有针对性地除杂、对目标物进行富集浓缩,使得黄酒多酚测定更准确。

表 2　方法的精密度和回收率(*n*=5)

Table 2　Precision and recovery of the method(*n*=5)

化合物	原有值/(mg/L)	添加值/(mg/L)	测得值/(mg/L)	回收率/%	RSD/%
香豆酸	2.00	10 4	11.62 6.13	96.2 103.2	1.0
阿魏酸	3.94	10 4	11.02 7.43	70.8 87.3	3.2
表儿茶素	1.49	10 4	10.64 5.01	91.5 88.0	1.8
丁香酸	15.37	10 4	24.67 18.74	93.0 84.2	1.3
儿茶素	50.16	10 4	59.38 53.92	92.2 94.0	1.1
芦丁	2.79	10 4	12.03 6.83	92.4 101.0	1.9
没食子酸	6.04	10 4	15.34 9.62	93.0 89.5	1.2
原儿茶酸	1.32	10 4	11.02 5.47	97.0 103.8	2.6
槲皮素	1.93	10 4	11.42 5.88	94.9 98.8	1.2

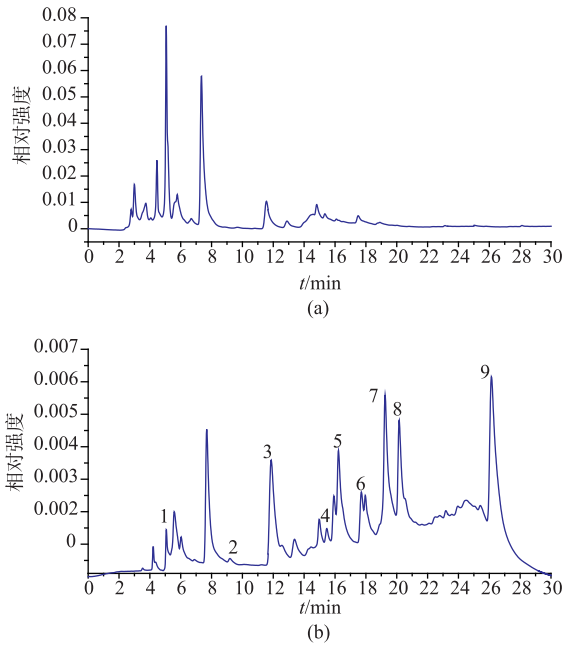
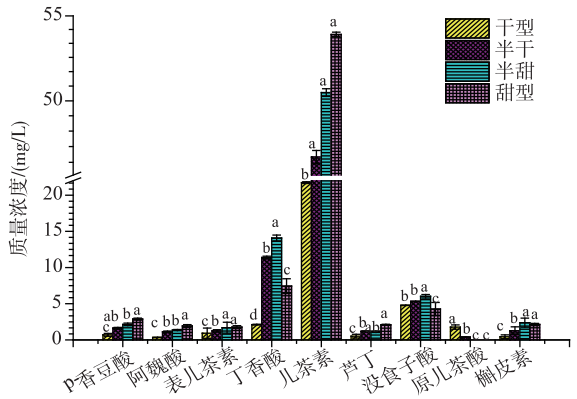


图 5　原黄酒样和过 SPE 柱黄酒样品色谱图

Fig. 5　Chinese rice wine sample chromatograms



注:不同字母代表显著差异(p<0.05)

图 6　不同甜型黄酒的多酚测定结果

Fig. 6　Determination results of different type of sweet rice wine polyphenols

由图 6 可知，在黄酒中，总多酚质量浓度为 86.24~115.70 mg/L。叶杰、倪莉[6]用 Folin—ciocalteu 法测定黄酒中总多酚含量为 376~582 mg/L,福林酚法测定的是黄酒中的总多酚含量,其原理是多酚与相应试剂发生特异性反应,反应产物对特定波长的有最大吸收,且吸光度值与多酚的量在一定浓度范围内成线性关系,此方法存在较大误差,使用HPLC 法测定黄酒中的 9 种常见多酚,还有一部分未测定的酚酸类及黄烷醇类,故要比福林酚法测定的总含量要低。本实验中,儿茶素与丁香酸为质量浓度最高的两种酚酸,4 种甜型黄酒中儿茶素质量浓度在 21.73~53.86 mg/L 之间，丁香酸质量浓度在 2.11~11.38 mg/L 之间,这与 Que F 等[22]运用高效液相色谱法测定的黄酒中多酚所得结果一致有小幅度偏高，是由于固相萃取法可以将多酚更好地富集,所得的回收率更高。由图 6 可知,p-香豆酸、芦丁含量在 4 种甜型黄酒中有显著性差异(p<0.05),均为甜型黄酒质量浓度最高，干型黄酒质量浓度最低;阿魏酸质量浓度在 4 种甜型黄酒中质量浓度为 0.34~1.92 mg/L 之间,在半干和半甜型黄酒中质量浓度没有显著性差异,在甜型黄酒中质量浓度最高,干型黄酒中质量浓度最低;表儿茶素与槲皮素质量浓度在 0.42~2.38 mg/L 之间，其中甜型与半甜型两种黄酒这两种多酚质量浓度没有显著性差异,质量浓度均大于干型与半干型黄酒;丁香酸质量浓度在 4 种甜型黄酒中有显著性差异,其中半甜型与半干型质量浓度大于干型与甜型；儿茶素质量浓度在半干、半甜、甜型 3 种黄酒中无显著性差异,均远大于干型黄酒中质量浓度;没食子酸质量浓度在 4.26~6.02 mg/L 之间,其中半甜型黄酒中质量浓度最高而干型黄酒中质量浓度最低;原儿茶酸只在干型与半干型黄酒中检测出,质量浓度分别为 1.77、0.39 mg/L,而在甜型、半甜型黄酒中均未检出。另外,由结果还可以看出 9 种多酚在不同甜型传统黄酒中,在半干与干型黄酒中质量浓度普遍低于甜型与半甜型黄酒,尤其干型黄酒质量浓度相较于其他甜型黄酒大幅度偏低,这可能与其生产工艺有关,还待进一步研究。

3 结　语

1)采用固相萃取作为前处理方法,就固相萃取小柱类型、洗脱剂类型、洗脱剂体积等因素对 9 种多酚的回收率做了评价比较。经过优化,采用 Poly-Sery HLB SPE 小柱，甲醇为洗脱剂，洗脱体积为 3 倍上样体积 9 种多酚回收率最高，在 87.3%~103.8%之间,相对标准偏差小于 3.2%。

2）运用该方法对不同甜型的绍兴黄酒中多酚含量进行精确测定,不同甜型的传统黄酒中多酚以儿茶素和丁香酸为主,干型黄酒、半干型黄酒中多酚含量低于甜型黄酒和半甜型黄酒。该方法测定黄酒中多酚含量,不仅简便、快速,而且灵敏度高、选择性好、准确度高,也可以作为复杂基体食品中多酚的分析方法。

参考文献:

[1] 胡文浪. 黄酒工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998.

[2] WEN Pengfei,CHENG Jianye,HUANG Weidong et al. Studies on 5 monomeric flavan-3-ol of wines by high performance liquid chromatography[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2006(3):133-137.(in Chinese)

[3] WEN Pengfei,CHENG Jianye,HUANG Weidong et al. Studies on the determination of 11 phenolic acids in wines by reverse phase high performance liquid chromatography [J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2006(3):

133-137.(in Chinese)
[4] MONAGAS M, SUAREZ R. Simultaneous determination of nonanthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC-DAD/ESI-MS[J]. **American Journal of Enology and Viticulture**, 2005, 56(2): 139-147.
[5] HAN Zhen, FENG Aijun, ZHAO Wenhong, et al. Research development of polyphenols determination in rice wine [J]. **China Brewing**, 2011(8): 5-8.(in Chinese)
[6] 叶杰，倪莉. Folin-ciocalteu 法测定黄酒中总多酚含量[J]. 福建轻纺，2006(11)：66-69.
[7] HAN Zhen, FENG Aijun, ZHAO Wenhong et al. Research development of polyphenols determination in rice wine [J]. **China Brewing**, 2008(11): 117-119.(in Chinese)
[8] WENG Hongzhen, YUE Taixin, CHENG Yufeng. Solid-phase extraction and High-performance liquid chromatography determination of polyphenols in wine[J]. **China Brewing**, 2009(3): 164-166.(in Chinese)
[9] DU Lijuan, XUE Jie, WANG Yijing. Determination of polyphenols in kiwifruit wine by RP- HPLC [J]. **Liquor Making**, 2008(1): 72-74.(in Chinese)
[10] WENG Hongzhen, CHENG Yufeng. Determination of polyphenols in cider by HPLC[J]. **China Brewing**, 2009(5): 159-161.(in Chinese)
[11] CHEN Lei, HUANG Xuesong. Simultaneous determination of 5-Hydroxymethylfurfural and nine kinds of phenolic compounds in rice wine using high performance liquid chromatography[J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2010(1): 133-137.(in Chinese)
[12] LIMA D L D, DUARTE A C. Solid-phase extraction and capillary electrophoresis determination of phenols from soil after alkaline CuO oxidation[J]. **Chemosphere**, 2007, 69(4): 561-568.
[13] MATEJICEK D, KLEJDUS B. Application of solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in barrique wines [J]. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2003, 377(2): 340-345.
[14] CHENG Yufeng, ZHANG Zhenwen, YUE Taixin, et al. Study on simultaneous determination of 10 mono- phenols in wines by HPLC[J]. **Food Science**, 2008(4): 287-290.(in Chinese)
[15] GREEN C E, ABRAHAM M H. Investigation into the effects of temperature and stirring rate on the solid-phase extraction of diuron from water using a C-18 extraction disk[J]. **Journal of Chromatography A**, 2000, 885(1-2): 41-49.
[16] AHMED F E. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks [J]. **Trac–Trends in Analytical Chemistry**, 2001, 20(11): 649-661.
[17] JEFFERY D W, MERCURIO M D. Rapid isolation of red wine polymeric polyphenols by solid-phase extraction [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2008, 56(8): 2571-2580.
[18] WANG Meili, ZHANG Zhenwen, ZHANG Yulin. Study on the determination of mono-phenol in grape by HPLC [J]. **Liquor–Making Science & Technology**, 2006(6): 91-93.(in Chinese)
[19] HU Qiufen, YANG Guangyu, HUANG Zhangjie, et al. Determination of phenols by solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. **Chinese Journal of Analytieal Chemistry**, 2002(5): 560-563.(in Chinese)
[20] FONTANALS N, GALIA M. Evaluation of a new hypercrosslinked polymer as a sorbent for solid-phase extraction of polar compounds[J]. **Journal of Chromatography A**, 2005, 1075(1-2): 51-56.
[21] GUILLEN D A, MERELLO F. Solid-phase extraction for sample preparation, in the HPLC analysis of polyphenolic compounds in "fino" sherry wine[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1997, 45(2): 403-406.
[22] QUE F, MAO L C. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds [J]. **Food Research International**, 2006, 39(5): 581-587.
[23] LIU Chunfeng, LI Qi, LI Yongxian, et al. Determination of purines in wheat by solid phase extraction-reverse phase high performance liquid chromatography[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2008(5): 472-476.(in Chinese)