

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.10.016

山东省市售酸枣仁饮片质量评价*

毕天琛^{1,2},王 劲¹,王素香¹,赵丹彤¹,杨国宁¹

(1. 山东省菏泽市食品药品检验检测研究院,山东 菏泽 274000; 2. 青岛科技大学化工学院,山东 青岛 266000)

摘要:目的 评价山东省市售酸枣仁饮片质量。方法 收集山东省16个地州市售酸枣仁饮片样品36批次(酸枣仁制得8批,炒酸枣仁制得28批;标示生产企业来自全国8个省市),参照2020年版《中国药典(一部)》,对样品的性状、显微特征、薄层色谱特征进行鉴别,采用高效液相色谱法测定样品中酸枣仁皂苷A和斯皮诺素的含量,并对样品进行聚类分析及相关性分析。结果 酸枣仁和炒酸枣仁饮片样品性状及显微特征均符合药典规定;薄层色谱中,供试品溶液在对照品溶液相应位置显相同颜色斑点;水分含量分别为4.7%~7.4%及4.8%~6.1%,总灰分含量分别为1.8%~3.8%及1.4%~3.4%;酸枣仁皂苷A含量分别为0.077%~0.143%及0.077%~0.140%,斯皮诺素含量分别为0.098%~0.126%及0.095%~0.275%。36批样品可聚为2类;酸枣仁皂苷A与斯皮诺素含量测定结果呈正相关,水分、总灰分与上述2种成分含量均无相关性。酸枣仁饮片样品中黄曲霉毒素含量均合格,而炒酸枣仁饮片样品中有2批次超标。结论 山东省市售酸枣仁饮片整体质量较好,仅在极少批次炒制饮片样品中发现黄曲霉毒素含量可能超标等问题,需进一步加强炮制工艺优化、贮藏环境监控及质量监管。

关键词:酸枣仁;炒酸枣仁;饮片;质量评价;山东省;药品监管

中图分类号:R931.7;R917

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)10-0069-06

Quality Evaluation of Ziziphi Spinosae Semen Decoction Pieces Sold in Shandong Province

BI Tianchen^{1,2}, WANG Jin¹, WANG Suxiang¹, ZHAO Dantong¹, YANG Guoning¹

(1. Heze Institute for Food and Drug Control, Heze, Shandong, China 274000; 2. College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong, China 266000)

Abstract: **Objective** To evaluate the quality of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces sold in Shandong province. **Methods** Thirty-six batches of samples (eight batches of Ziziphi Spinosae Semen and twenty-eight batches of parched Ziziphi Spinosae Semen, and the marked manufacturer of samples were from eight provinces or province-level municipality in China) sold in 16 cities in Shandong Province were collected. The properties, microscopic characteristics and thin-layer chromatography (TLC) characteristics of the samples were identified according to the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume I). The contents of jujuboside A and spironotin in the samples were determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, and the samples were analyzed by cluster analysis and correlation analysis. **Results** The properties and microscopic characteristics of the samples of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces and parched Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces met the requirement of the *Chinese Pharmacopoeia*. In the TLC chromatograms, the test solution showed the same color spots at the corresponding position of the reference solution. In the samples of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces and parched Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces, the contents of moisture were 4.7% - 7.4% and 4.8% - 6.1% respectively, the contents of total ash were 1.8% - 3.8% and 1.4% - 3.4% respectively, the contents of jujuboside A were 0.077% - 0.143% and 0.077% - 0.140% respectively, and the contents of spinozin were 0.098% - 0.126% and 0.095% - 0.275% respectively. The 36 batches of samples could be grouped into two types. The content of jujuboside A was correlated with the content of spironotin, and there was no correlation between the contents of moisture and total ash and the contents of the above two components. The content of aflatoxin in the samples of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces was qualified, while two batches of parched Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces exceeded the standard. **Conclusion** The overall quality of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces sold in Shandong Province is good. The content of aflatoxin may exceed the standard in only a few batches of parched Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces. It is necessary to further strengthen the process optimization, storage environment monitoring and quality supervision.

Key words: Ziziphi Spinosae Semen; parched Ziziphi Spinosae Semen; quality evaluation of drug; Shandong Province; drug administration

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子^[1], 始载于《神农本草经》, 具有补肝、宁心、镇静、催眠、敛汗、生津、降血压、调血脂等功效, 是治疗心肝血虚之心悸、

*基金项目:2020年山东省流通使用环节重点饮片抽检项目[29]。

第一作者:毕天琛,女,在读硕士研究生,药师,研究方向为药品质量评价与标准,(电子信箱)bitianchen@163.com。

失眠的要药^[2-3]。国内外研究表明,酸枣仁药材含有脂肪油类、皂苷类、黄酮类、生物碱类、三萜类等多种药效化学组分^[4-7]。酸枣仁药食同源,市场需求大,为更好地评价其市售饮片质量,本研究中收集山东省市场36批次酸枣仁饮片,考察其性状、显微特征、薄层色谱特征及水分、总灰分和含量等项目,同时检测黄曲霉素含量,以全面评价该饮片质量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); Waters e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司); XS105型及AB104-S型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司); Milli-Q Advantage A10型超纯水仪(美国Millipore公司)。

1.2 试药

酸枣仁皂苷A对照品(批号110734-201914,含量为96.0%),斯皮诺素对照品(批号111869-201704,含量为97.2%),均购自中国食品药品检定研究院。酸枣仁饮片36批次(批号见表1),其中酸枣仁8批次(S1-S8),炒酸枣仁28批次(C1-C28)。抽样地域覆盖全省16个地市,样品来源包括医疗机构和零售单位,其中医疗机构28批次(77.78%),零售单位8批次(22.22%)。36批次饮片的标示生产企业来自全国8个省市,其中河北14批,安徽9批,山东8批,北京、广东、江苏、江西、甘肃各1批。甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

表1 酸枣仁饮片样品批号

Tab. 1 Batch numbers of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces

编号	批号	编号	批号	编号	批号	编号	批号
S1	181201	C2	20200402	C11	191201	C20	200701
S2	C1701910002	C3	2002002	C12	20022502	C21	2002063
S3	190401	C4	1809076	C13	191202	C22	190606045
S4	170200601	C5	20200428	C14	190701	C23	200401
S5	20042501	C6	191101	C15	200402	C24	20200501
S6	190601	C7	C4141912001	C16	1810002	C25	20011201
S7	20200501	C8	191201	C17	191227008	C26	2005001
S8	2003001	C9	2004001	C18	200301	C27	2005001
C1	190201	C10	200501	C19	C4142005001	C28	200402

2 方法与结果

2.1 抽验结果

2.1.1 性状

饮片样品均呈扁圆形或扁椭圆形。表面紫红或紫褐色,平滑有光泽。部分两面均呈圆隆状突起;部分一面稍平坦,有1条隆起的纵线纹;另一面稍凸起。一端凹陷,可见线形种脐;另一端有细小突起的合点。种皮较脆,子叶2,富油性。气微,味淡。36批饮片样品均符合标准规定。

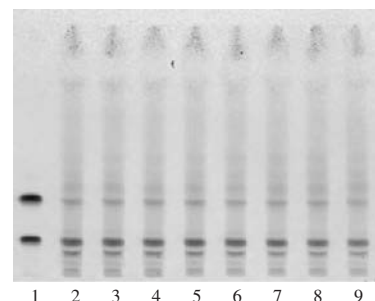
2.1.2 鉴别

显微鉴别:36批饮片样品均具有标准规定的显微特征。可见种皮栅栏细胞表面观呈多角形,侧面观呈长条形,底面观呈类方形;子叶表皮细胞内可见细小草酸钙簇晶和方晶。

薄层色谱鉴别:1)取酸枣仁皂苷A和酸枣仁皂苷B对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL各含1 mg的混合对照品溶液。取饮片样品粉末1 g,精密称定,加甲醇30 mL,加热回流1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇0.5 mL使溶解,即得供试品溶液。精密吸取上述溶液各5 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,以水饱和的正丁醇为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,置日光下检视。供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液相应位置上显相同的深(绿)色斑点(详见图1)。2)取斯皮诺素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液。取酸枣仁对照药材1 g,精密称定,加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)30 mL,加热回流2 h,滤过,弃去石油醚液,药渣挥干,加甲醇30 mL,加热回流1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,滤过,取续滤液,即得对照药材溶液。取饮片样品粉末1 g,同对照药材溶液制备方法,制备供试品溶液。精密吸取上述溶液各2 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,用水饱和的正丁醇为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液相应位置上显相同颜色斑点(详见图2)。36批样品均符合标准规定。

2.1.3 检查

水分:按照2020年版《中国药典(四部)》通则0832^[8]¹¹⁴⁻¹¹⁵水分测定法进行测定。结果酸枣仁饮片样品水分含量集中在4.7%~7.4%,均低于9.0%的限度;

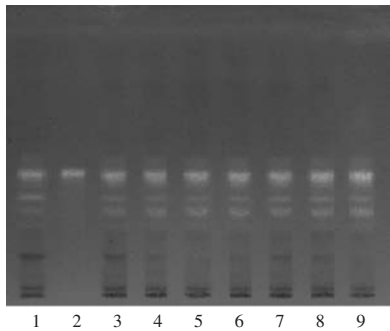


1. 酸枣仁皂苷A和酸枣仁皂苷B混合对照品溶液 2-5. 酸枣仁供试品溶液 6-9. 炒酸枣仁供试品溶液

图1 酸枣仁饮片薄层色谱图(日光下)

1. Mixed reference solution of jujuboside A and jujuboside B 2-5. Test solution of Ziziphi Spinosae Semen 6-9. Test solution of parched Ziziphi Spinosae Semen

Fig. 1 TLC chromatograms of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces (sunlight)



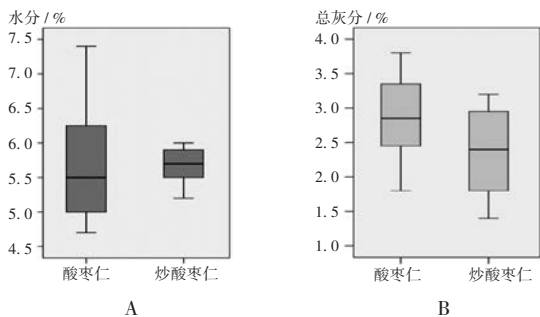
1. 酸枣仁对照药材溶液 2. 斯皮诺素对照品溶液 3-5. 酸枣仁供试品溶液 6-9. 炒酸枣仁供试品溶液

图2 酸枣仁饮片薄层色谱图(紫外光灯下)

1. Reference medicinal materials solution of Ziziphi Spinosae Semen
2. Spinozin reference solution 3-5. Test solution of Ziziphi Spinosae Semen
6-9. Test solution of parched Ziziphi Spinosae Semen

Fig. 2 TLC chromatogram of Ziziphi Spinosae Semen decoction pieces (ultraviolet light)

炒酸枣仁饮片样品水分含量集中在4.8%~6.1%,均低于7.0%的限度。详见图3 A。可见,除了1批次酸枣仁饮片样品水分含量较高外,酸枣仁和炒酸枣仁饮片样品水分含量整体分布接近,说明炮制未使酸枣仁中水分含量明显降低。



A. 水分 B. 总灰分
图3 样品水分、总灰分含量测定结果箱式图
A. Moisture B. Total ash

Fig. 3 Box plot of content determination of moisture and total ash in the samples

总灰分:按2020年版《中国药典(四部)》通则2302^[8]灰分测定法进行测定。结果酸枣仁饮片样品总灰分含量集中在1.8%~3.8%,均低于7.0%的标准;炒酸枣仁饮片样品总灰分含量集中在1.4%~3.4%,均低于4.0%的标准规定。详见图3 B。可见,酸枣仁和炒酸枣仁饮片样品总灰分含量均较低(低于4.0%),炒酸枣仁饮片样品总灰分含量总体低于酸枣仁饮片样品。可能因为炮制过程减少了酸枣仁表面黏附或掺杂的无机杂质。

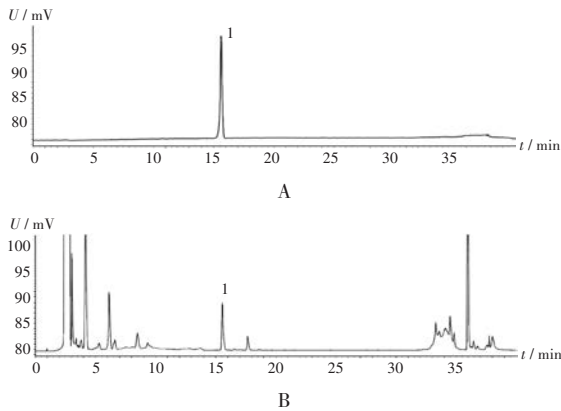
2.1.4 酸枣仁皂苷A含量测定

色谱条件:色谱柱为Agilent ZORBAX C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~15 min时20%A→40%A, 15~28 min时40%A,

28~30 min时40%A→70%A, 30~32 min时70%A→100%A);蒸发光散射检测器检测;流速为1.0 mL/min;检测波长为335 nm;柱温为25℃;进样量为10 μL。

溶液制备:取酸枣仁皂苷A对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为0.1 mg/mL的对照品溶液。取饮片样品粉末(过四号筛)1 g,置索氏提取器中,加石油醚(60~90℃)适量,加热回流4 h,弃去石油醚液,药渣挥去溶剂,转移至锥形瓶中,加70%乙醇20 mL,加热回流2 h,滤过,滤渣用70%乙醇5 mL洗涤,合并洗液和滤液,回收溶剂至干,残渣加甲醇溶解并定容至5 mL,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

方法学考察:1)系统适用性试验,精密吸取上述2种溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图;供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有吸收峰,理论板数按酸枣仁皂苷A峰计算应不低于2 000,分离度均大于1.5,基线分离良好(见图4)。2)线性关系考察,取对照品溶液适量,按拟订色谱条件进样测定,结果酸枣仁皂苷A进样量在0.010 2~10.21 μg范围内与峰面积线性关系良好($r = 0.999 5, n = 5$)。3)精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于1.60%。4)平均加样回收率为99.05%,RSD为1.64%($n = 6$)。



1. 酸枣仁皂苷A
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图4 高效液相色谱图

1. Jujuboside A

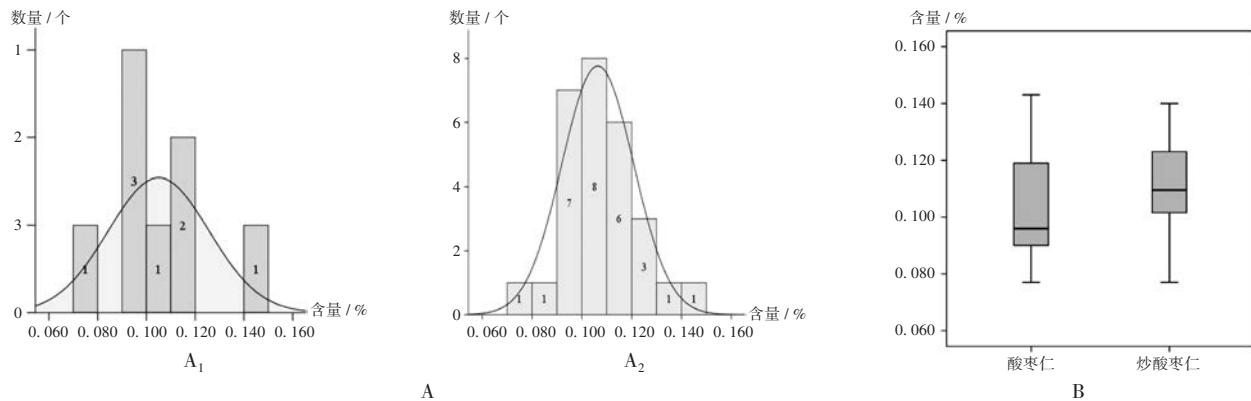
A. Reference solution B. Test solution

Fig. 4 HPLC chromatograms

含量测定:按2020年版《中国药典(一部)》酸枣仁项下规定进行检验。结果显示,36批次饮片样品中酸枣仁皂苷A含量测定结果均大于0.030%,合格率100.00%。酸枣仁、炒酸枣仁饮片样品中酸枣仁皂苷A的含量分别为0.077%~0.143%和0.077%~0.140%,且整体水平接近,集中在0.090%~0.130%。详见图5。

2.1.5 斯皮诺素含量测定

色谱条件:梯度洗脱程序,0~10 min时12%A→



A. 直方图(A₁. 酸枣仁 A₂. 炒酸枣仁) B. 箱式图

图5 饮片样品中酸枣仁皂苷A含量测定分布

A. Histogram (A₁. Ziziphi Spinosa Semen A₂. Parched Ziziphi Spinosa Semen) B. Box plot

Fig. 5 Distribution of content determination of jujuboside A in the samples

19%A; 10~16 min 时 19%A→20%A; 16~22 min 时 20%A→100%A; 22~30 min 时 100%A; 采用紫外-可见分光光度计检测; 其余同酸枣仁皂苷A含量测定色谱条件项。

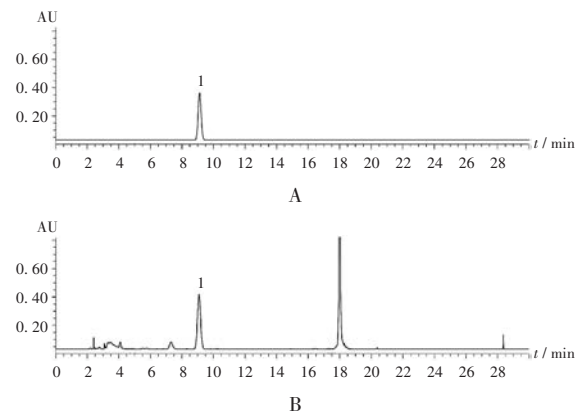
溶液制备: 取斯皮诺素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度为0.2 mg/mL的对照品溶液; 供试品溶液同酸枣仁皂苷A溶液制备项。

方法学考察: 1) 系统适用性试验, 精密吸取上述2种溶液各适量, 按拟订色谱条件进样测定, 记录色谱图, 供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相同保留时间处有吸收峰, 理论板数按斯皮诺素峰计应不低于2 000, 分离度均大于1.5, 基线分离良好(见图6)。2) 线性关系考察, 取对照品溶液适量, 按拟订色谱条件进样测定, 结果斯皮诺素进样量在0.019 7~19.73 μg范围内与峰面积线性关系良好($r = 0.999 0$, $n = 5$)。3) 精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于1.30%。4) 平均加样回收率为97.19%, RSD为1.33%($n = 6$)。

含量测定: 按2020年版《中国药典(一部)》酸枣仁项下规定进行检验。结果显示, 36批次饮片样品中斯皮诺素含量测定结果均大于0.080%, 符合规定。其中酸枣仁、炒酸枣仁饮片样品中斯皮诺素的含量分别为0.098%~0.126%和0.095%~0.275%。详见图7。可见, 炒酸枣仁饮片样品中斯皮诺素含量整体大于酸枣仁, 且集中在0.100%~0.150%。

2.2 综合分析

层次聚类分析: 将酸枣仁和炒酸枣仁样品水分、总灰分、酸枣仁皂苷A和斯皮诺素含量测定数据输入悟空平台(<https://www.omicsolution.com/wkomics/main/>), 进行层次聚类分析(HCA), 数据进行标准化处理。结果见图8。可见, 36批次样品被聚为两类, S2、S4、C4、C5、C6、C7、C8、C14、C19、C20、C21、C23、C24、C25、C27、C28



1. 斯皮诺素

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图6 高效液相色谱图

1. Spinozin

A. Reference solution B. Test solution

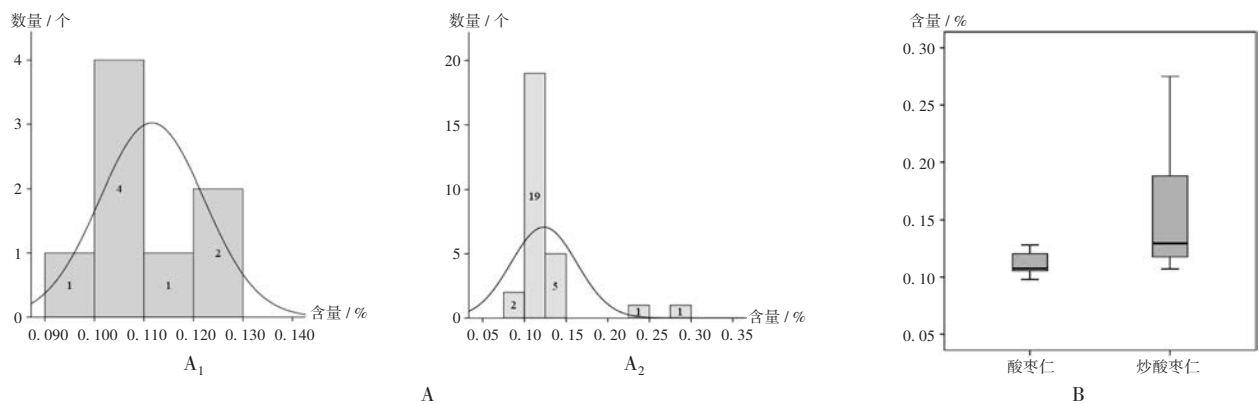
Fig. 6 HPLC chromatograms

被聚为一类, 其余20批次饮片样品被聚为另一类。8批次酸枣仁和28批次炒酸枣仁均未被聚为同一类, 说明酸枣仁和炒酸枣仁在水分、总灰分、酸枣仁皂苷A和斯皮诺素含量无明显差异, 故不能通过这4个检验项目对酸枣仁、炒酸枣仁进行区分。

相关性分析: 采用SPSS 22.0统计学软件对36批次饮片样品中水分、总灰分、酸枣仁皂苷A和斯皮诺素含量等数据进行相关性分析, 详见表2。结果显示, 酸枣仁皂苷A和斯皮诺素含量测定结果呈正相关, 推测两种活性物质在生物代谢过程中具有相关性, 但需进一步研究。水分、总灰分与其他项目均无相关性。

2.3 探索性研究及分析

2020年版《中国药典(一部)》酸枣仁和炒酸枣仁饮片现行标准中对黄曲霉毒素未作规定。为考察2种饮片黄曲霉污染情况, 参照2020年版《中国药典(四部)》黄



A. 直方图(A₁. 酸枣仁 A₂. 炒酸枣仁) B. 箱式图

图7 饮片样品中斯皮诺素含量测定分布

A. Histogram (A₁. Ziziphi Spinosae Semen A₂. Parched Ziziphi Spinosae Semen) B. Box plot

Fig. 7 Distribution of content determination of spinosin in the samples

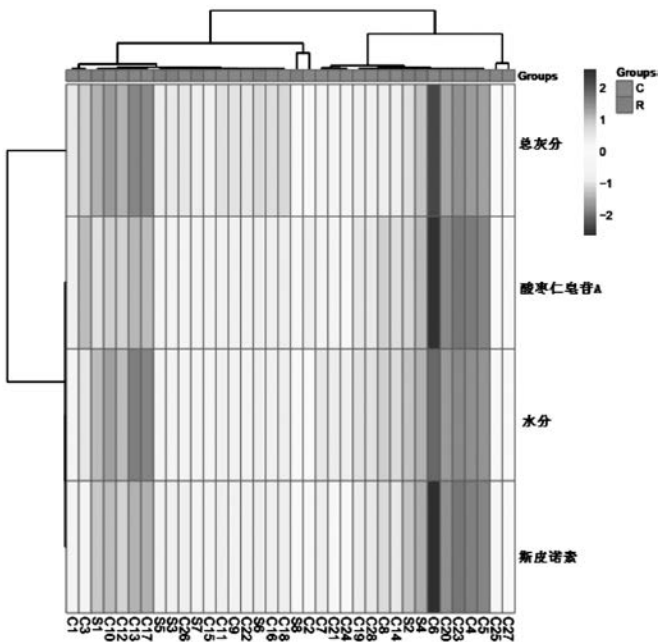


图8 酸枣仁和炒酸枣仁饮片样品层次聚类图

Fig. 8 Hierarchical clustering diagram of the samples of Ziziphi Spinosae Semen and parched Ziziphi Spinosae Semen

曲霉毒素测定法第二法^[8]280-281对36批次饮片样品黄曲霉毒素B₁、黄曲霉毒素B₂、黄曲霉毒素G₁和黄曲霉毒素G₂含量进行测定。结果见图9。

2020年版《中国药典(一部)》中酸枣仁药材项^[1]下黄曲霉毒素限度规定,每1 000 g含黄曲霉毒素B₁不得超过5 μg,含黄曲霉毒素B₁、黄曲霉毒素B₂、黄曲霉毒素G₁和黄曲霉毒素G₂的总量不得超过10 μg。结果显示,大部分样品中黄曲霉毒素含量较低,8批次酸枣仁饮片样品均合格,但有2批次炒酸枣仁饮片样品不合格,提示炒酸枣仁饮片样品贮藏中存在被黄曲霉毒素污染的风险。

3 讨论

我省流通使用环节所用酸枣仁饮片总体质量情况

表2 水分、总灰分、酸枣仁皂苷A和斯皮诺素含量测定结果相关性分析

Tab. 2 Correlation analysis of content determination of moisture, total ash, jujuboside A and spinosin

	指标	水分	总灰分	酸枣仁皂苷A	斯皮诺素
水分	皮尔逊相关性	1.000	0.316	-0.179	0.028
	显著性(双尾)		0.061	0.297	0.872
	个案数	36	36	36	36
总灰分	皮尔逊相关性	0.316	1.000	0.095	0.090
	显著性(双尾)	0.061		0.582	0.600
	个案数	36	36	36	36
酸枣仁皂苷A	皮尔逊相关性	-0.179	0.095	1.000	0.537
	显著性(双尾)	0.297	0.582		0.001
	个案数	36	36	36	36
斯皮诺素	皮尔逊相关性	0.028	0.090	0.537	1.000
	显著性(双尾)	0.872	0.600	0.001	
	个案数	36	36	36	36

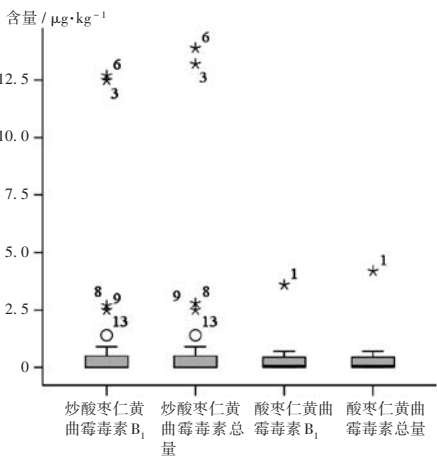


图9 黄曲霉毒素含量测定结果箱式图

Fig. 9 Box plot of content determination of aflatoxin

良好,按2020年版《中国药典(一部)》规定,抽检合格率100.00%。但仍存在两方面问题:一是探索性研究结果