

中图分类号: R932; R284.1; R286.0  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.01.015

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)01-0068-05



## 酸枣仁与理枣仁鉴别方法研究\*

张艳慧<sup>1</sup>, 张明童<sup>2△</sup>, 刘丽丽<sup>3</sup>, 王楠<sup>1</sup>

(1. 河北省保定市食品药品检验所, 河北 保定 071000; 2. 甘肃省药品检验研究院·甘肃省中藏药检验检测技术工程实验室·国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室, 甘肃 兰州 730070; 3. 河北省石家庄海关技术中心保定业务部, 河北 保定 071051)

**摘要:**目的 建立酸枣仁及常见伪品理枣仁的鉴别方法, 为酸枣仁的质量控制和市场监管提供依据。方法 对酸枣仁和理枣仁进行性状及显微鉴别, 采用超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定其中6'''-芥子酰斯皮诺素的含量, 色谱柱为 Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(100 mm × 2.1 mm, 2.6 μm), 流动相为 0.1% 甲酸-10 mmol/L 甲酸铵水溶液-甲醇(梯度洗脱), 流速为 0.2 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 5 μL, 离子源为电喷雾离子源, 正离子、多反应监测模式扫描, 电喷雾电压为 3.5 kV, 离子源温度为 150 °C, 去溶剂气温度为 500 °C, 扫描范围为 50~1 000 amu。结果 酸枣仁和理枣仁在性状上外种皮纹理存在差异, 在显微特征上外种皮栅状细胞、种皮内表皮细胞存在差异。6'''-芥子酰斯皮诺素的质量浓度在 0.205 2~6.156 μg/mL 范围内与峰面积积分值线性关系良好( $r=0.9975$ ,  $n=6$ ), 检测限为 21.13 pg。酸枣仁和理枣仁样品的精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均低于 3.0% ( $n=6$ ); 加样回收率分别为 97.01% 和 97.80%, RSD 分别为 2.15% 和 2.09% ( $n=6$ )。10 批酸枣仁和理枣仁中 6'''-芥子酰斯皮诺素的含量分别为 0.23, 3.70 μg/mL。拟订酸枣仁中掺伪理枣仁限度为 5%, 样品中 6'''-芥子酰斯皮诺素测得含量大于 0.5 μg/mL 时可视为掺伪理枣仁。结论 所建立的方法操作简便、结果准确、重复性和稳定性均良好, 可有效鉴别酸枣仁和理枣仁。

**关键词:** 酸枣仁; 理枣仁; 超高效液相色谱串联质谱法; 性状鉴别; 显微鉴别; 6'''-芥子酰斯皮诺素

### Identification Methods of Ziziphi Spinosae Semen and Ziziphi Mauritanae Semen

ZHANG Yanhui<sup>1</sup>, ZHANG Mingtong<sup>2</sup>, LIU Lili<sup>3</sup>, WANG Nan<sup>1</sup>

(1. Baoding Institute for Food and Drug Control, Baoding, Hebei, China 071000; 2. Gansu Institute for Drug Control · Gansu Inspection and Testing Technical Engineering Laboratory for Chinese Herbal and Tibetan Medicine · NMPA Key Laboratory for Quality Control of TCM, Lanzhou, Gansu, China 730070; 3. Baoding Business Department of Shijiazhuang Customs Technology Center, Baoding, Hebei, China 071051)

**Abstract: Objective** To establish a method for the identification of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) and Ziziphi Mauritanae Semen (ZMS), and to provide a basis for quality control and market supervision of ZSS. **Methods** Morphological and microscopic identification of ZSS and ZMS was conducted. The content of 6'''-sinapine in ZSS and ZMS was determined by the ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method, the chromatographic column was Phenomenex C<sub>18</sub> column (100 mm × 2.1 mm, 2.6 μm), the mobile phase was 0.1% formic acid-10 mmol/L ammonium formate aqueous solution-methanol (gradient elution), the flow rate was 0.2 mL/min, the column temperature was 30 °C, the injection volume was 5 μL, multi-reaction monitoring mode scanning adopted with electric spray ion source and positive ion, the electric spray voltage was 3.5 kV, the ion source temperature was 150 °C, the desolvent gas temperature was 500 °C, and the scanning range was 50-1 000 amu. **Results** There were differences in the texture of the exotesta between ZSS and ZMS in terms of traits, as well as differences in the grid like cells of the exotesta and the inner epidermal cells of the testa in terms of microscopic characteristics. The linear range of 6'''-sinapoylspinosin was 0.205 2-6.156 μg/mL ( $r=0.9975$ ,  $n=6$ ). The limit of detection (LOD) was 21.13 pg. The RSDs of precision, stability, and repeatability test results of ZSS and ZMS samples were lower than 3.0% ( $n=6$ ). The recovery rates of 6'''-sinapoylspinosin in ZSS and AMS were 97.01% and 97.80% with RSDs of 2.15% and 2.09% ( $n=6$ ), respectively. The content of 6'''-sinapoylspinosin in ZSS and ZMS in 10 batches of samples were 0.23 μg/mL and 3.70 μg/mL, respectively. The limit of ZMS in ZSS was set as 5%. When the content of 6'''-sinapoylspinosin in the sample was higher than 0.5 μg/mL, which could be considered adulterating ZMS. **Conclusion** The established method is simple and accurate with good repeatability and stability, which can effectively distinguish ZSS and ZMS.

**Key words:** Ziziphi Spinosae Semen; Ziziphi Mauritanae Semen; UPLC-MS/MS; morphological identification; microscopic identification; 6'''-sinapoylspinosin

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, 收载

\*基金项目: 河北省市场监督管理局科研计划项目[2020ZD36]; 甘肃省药品监督管理局药品科研项目[2022GSMPA0017]; 甘肃省药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室项目[2022GSMPA-KL12, 2022GSMPA-KL10]; 甘肃省兰州市科技计划项目[2022-3-41]。

第一作者: 张艳慧, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为中药材及中成药的质量控制, (电子信箱)106064593@qq.com。

△通信作者: 张明童, 男, 硕士研究生, 主管中药师, 研究方向为中药质量控制与评价, (电子信箱)519815751@qq.com。

于 2020 年版《中国药典(一部)》<sup>[1]</sup>, 具有养心补肝、宁心安神、敛汗生津等功效<sup>[2]</sup>, 用于治疗虚烦不眠、惊悸多梦、体虚多汗、津伤口渴<sup>[3]</sup>。近年来, 由于该品种资源紧缺, 市场上出现了以同属植物理枣仁 *Ziziphus mauritiana* Lam. 的种子冒充酸枣仁的现象<sup>[4]</sup>。理枣仁为云南省地方习用药材, 其饮片质量标准收载于《云南中药饮片标准(2005 年版第一册)》<sup>[5]</sup>。酸枣仁和理枣仁性状相似, 易误判<sup>[6]</sup>。前期研究中发现, 二者混淆使用或掺混使用的情况较多见<sup>[7]</sup>。而按现行法定标准 2020 年版《中国药典(一部)》无法较好鉴别酸枣仁和理枣仁, 且斯皮诺斯在两者中的差异不明显。酸枣仁皂苷 A 和酸枣仁皂苷 B 在酸枣仁和理枣仁中含量有差异<sup>[8]</sup>, 但酸枣仁中若掺伪理枣仁则无法准确鉴别, 故有必要建立同时鉴别酸枣仁和理枣仁及酸枣仁掺伪理枣仁的方法, 以准确鉴别酸枣仁掺伪理枣仁的情况。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SZX12 型体视显微镜、C5060 型数码照相机、BX51 型生物显微镜、DP71 型数码成像系统(日本 Olympus 光学工业股份有限公司); Xevo TQD 型液相色谱-质谱联用仪(沃特世科技 < 上海 > 有限公司); BP211D 型电子天平(赛多利斯科学仪器 < 北京 > 有限公司, 精度为万分之一)。

1.2 试剂

6''- 芥子酰斯皮诺素对照品(实验室自制, 含量以 94.8% 计); 乙腈为色谱纯, 乙醇、石油醚(60 ~ 90 °C)、甲酸均为分析纯; 酸枣仁和理枣仁样品(各 10 批, 样品编号和产地信息见表 1), 经河北省药品医疗器械检验研究院段吉平主任药师鉴定为正品。

表 1 酸枣仁和理枣仁样品信息

Tab. 1 Sample information of ZSS and ZMS

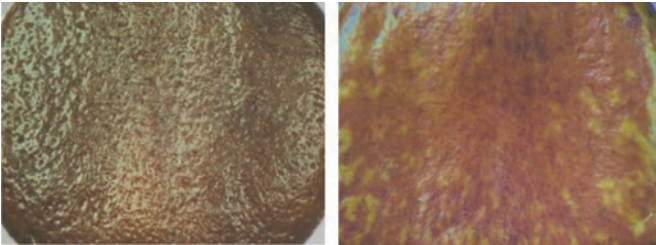
| 编号  | 药材  | 产地 | 编号  | 药材  | 产地     |
|-----|-----|----|-----|-----|--------|
| S1  | 酸枣仁 | 东北 | L1  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S2  | 酸枣仁 | 山东 | L2  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S3  | 酸枣仁 | 河北 | L3  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S4  | 酸枣仁 | 佛山 | L4  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S5  | 酸枣仁 | 河北 | L5  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S6  | 酸枣仁 | 山西 | L6  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S7  | 酸枣仁 | 邢台 | L7  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S8  | 酸枣仁 | 邢台 | L8  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S9  | 酸枣仁 | 山东 | L9  | 理枣仁 | 保定安国市场 |
| S10 | 酸枣仁 | 河北 | L10 | 理枣仁 | 保定安国市场 |

2 方法与结果

2.1 性状鉴别

参考相关标准<sup>[1]</sup>, 使用体视显微镜和数码照相机<sup>[9]</sup>观察并记录酸枣仁和理枣仁样品的外观特征。通过比

较二者的性状发现, 酸枣仁外种皮为紫红色或紫褐色, 表面有凹坑; 理枣仁外种皮为黄棕色至红棕色, 表面有红棕色和黄棕色相间的纹理。详见图 1。

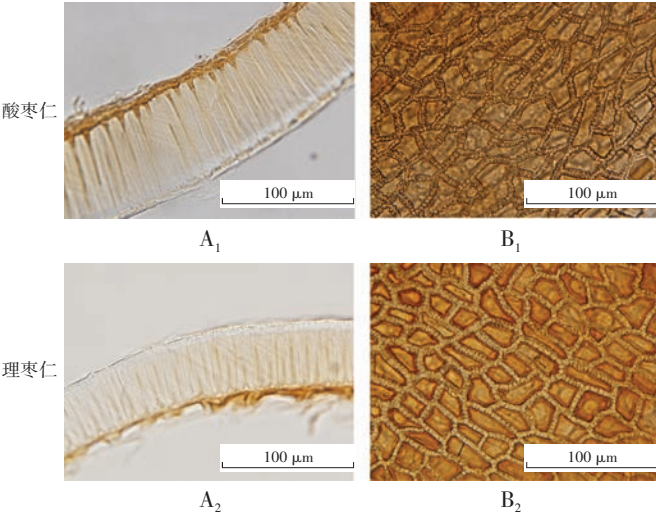


A. 酸枣仁 B. 理枣仁  
图 1 酸枣仁和理枣仁性状鉴别图  
A. ZSS B. ZMS

Fig. 1 Identification of characters of ZSS and ZMS

2.2 显微鉴别

解剖酸枣仁及理枣仁的种子, 分取外种皮, 用 5% 氢氧化钾溶液浸泡后制片, 取内种皮, 加水合氯醛液透化后制片, 分别置生物显微镜下观察, 并用数码成像系统记录其组织特征。通过比较二者的显微特征发现, 酸枣仁和理枣仁外种皮栅状细胞均呈棕黄色, 侧面均呈长条形, 直径分别约为 100 μm 和 60 μm; 种皮内表皮细胞均呈棕黄色, 表面呈长方形或类方形, 垂周壁连珠状增厚, 酸枣仁连珠边缘圆润、列稀疏、大小不一, 理枣仁连珠为类长方形、排列紧密、大小均匀。详见图 2。



A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>. 外种皮栅状细胞 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>. 种皮内表皮细胞

图 2 酸枣仁和理枣仁显微鉴别图(×160)

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>. Epidermal grid cells B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>. Inner epidermal cells of testa

Fig. 2 Microscopic identification of SZS and ZMS (×160)

2.3 超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定含量

2.3.1 差异性成分鉴定

对前期研究发现的酸枣仁和理枣仁的差异性成分进行了提取、制备, 并进行核磁、红外、质谱等表征后,

确定该物质为6'''-芥子酰斯皮诺素,化学结构式见图3,酸枣仁和理枣仁中6'''-芥子酰斯皮诺素多反应监测(MRM)质谱图见图4。

2.3.2 试验条件

1)色谱条件。色谱柱:Phenomenex C<sub>18</sub>柱(100 mm × 2.1 mm, 2.6 μm);流动相:A为0.1%甲酸-10 mmol/L甲酸铵水溶液,B为甲醇,梯度洗脱(程序见表2);流速:0.2 mL/min;柱温:30℃;进样量:5 μL。

2)质谱条件。离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子扫描;检测模式:MRM;电喷雾电压:3.5 kV;离子源温度:150℃;去溶剂气温度:500℃;扫描范围:50~1 000 amu。监测离子对质谱参数见表3。

2.3.3 溶液制备

取酸枣仁和理枣仁样品粉末(过4号筛)2.0 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚(60~90℃)80 mL,85℃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%乙醇溶液50 mL,称定质量,90℃回流提取2 h,放冷,再称定质量,加70%乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液25 mL,回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至200 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,作为供试品溶液<sup>[10]</sup>。

取6'''-芥子酰斯皮诺素对照品0.023 15 g,精密称定,置25 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得对照品贮备液。取6'''-芥子酰斯皮诺素对照品0.010 26 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为0.205 2 mg/mL的对照品溶液A;精密量取

表2 流动相梯度洗脱程序(%)

| Tab. 2 Gradient elution program of the mobile phase (%) |       |       |            |       |       |
|---------------------------------------------------------|-------|-------|------------|-------|-------|
| 时间                                                      | 流动相A  | 流动相B  | 时间         | 流动相A  | 流动相B  |
| 0~1 min                                                 | 90    | 10    | 6~6.1 min  | 10→90 | 90→10 |
| 1~3 min                                                 | 90→10 | 10→90 | 6.1~10 min | 90    | 10    |
| 3~6 min                                                 | 10    | 90    |            |       |       |

表3 6'''-芥子酰斯皮诺素监测离子对质谱参数

| Tab. 3 Monitoring ion pair mass spectrometry parameters of 6'''-sinapoylspinosin |         |          |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------|----------|
| 母离子/子离子( <i>m/z</i> )                                                            | 锥孔电压(V) | 碰撞能量(eV) |
| 815/351                                                                          | 30      | 30       |
| 815/429                                                                          | 30      | 20       |
| 815/207*                                                                         | 30      | 30       |

注:\*为定量离子对;*m/z*为质荷比。

Note:\* refers to quantitative ion pairs, and *m/z* refers to mass - to - charge ratio.

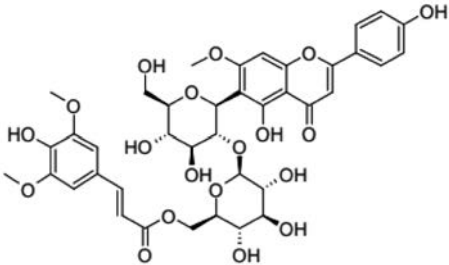
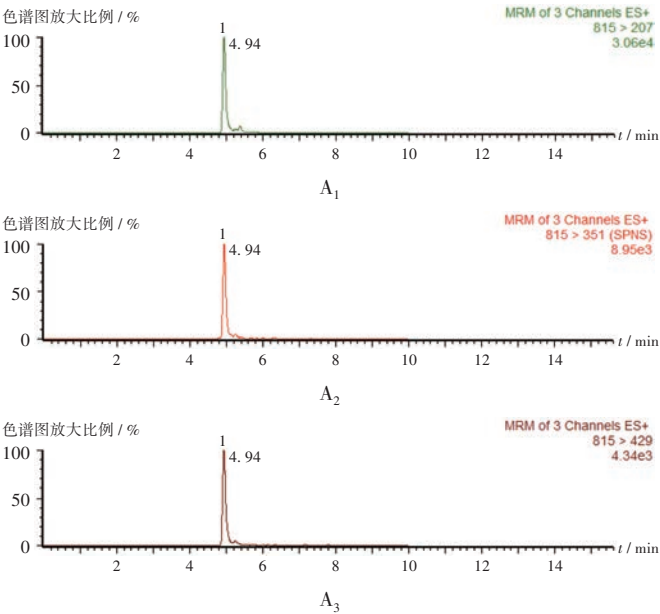


图3 6'''-芥子酰斯皮诺素化学结构式

Fig. 3 Structural formula of 6'''-sinapoylspinosin



1. 6'''-芥子酰斯皮诺素

A<sub>1</sub> - A<sub>3</sub>. 酸枣仁 B<sub>1</sub> - B<sub>3</sub>. 理枣仁

图4 酸枣仁和理枣仁中6'''-芥子酰斯皮诺素多反应监测质谱图

1. 6'''-Sinapoylspinosin

A<sub>1</sub> - A<sub>3</sub>. ZSS B<sub>1</sub> - B<sub>3</sub>. ZMS

Fig. 4 Mass spectrum of the multi - reaction monitoring of 6'''-sinapoylspinosin in ZSS and ZMS

上述溶液1 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为20.52 μg/mL的对照品溶液B;精密吸取上述溶液0.25 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为0.5 μg/mL的对照品溶液C。

2.3.4 方法学考察

线性关系考察<sup>[11]</sup>:精密量取2.3.3项下对照品溶液B 0.1,0.8,1.0,1.5,2.0,3.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度分别为0.205 2,1.641 6,2.052,3.078,4.104,6.156 μg/mL的系列对照品稀释液,按2.3.2项下试验条件进样测定,以对照品溶液B的质量浓度( $X$ , μg/mL)为横坐标、峰面积积分值( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 13.3849X - 285.847$ ,  $r = 0.9975$  ( $n = 6$ )。结果表明,6'''-芥子酰斯皮诺素的质量浓度在0.205 2~6.156 μg/mL范围内与峰面积积分值线性关系良好。

检测限确定:取2.3.3项下对照品溶液B适量,加甲醇逐级稀释,分别按2.3.2项下试验条件进样测定,按信噪比( $S/N$ )为3:1时的进样量为检测限。结果6'''-芥子酰斯皮诺素的检测限为21.13 pg。

精密度试验:分别取2.3.3项下酸枣仁(编号为S1)、理枣仁(编号为L1)样品各适量,依法制备供试品溶液,按2.3.2项下试验条件连续进样测定6次,记录色谱图。结果保留时间的 $RSD$ 不大于1.50%,峰面积的 $RSD$ 分别为2.01%,1.83% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

重复性试验:分别取酸枣仁(编号为S1)、理枣仁(编号为L1)样品各适量,精密称定,按2.3.3项下方法制备供试品溶液6份,按2.3.2项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果酸枣仁保留时间的 $RSD$ 为0.58% ( $n = 6$ ),峰面积的 $RSD$ 为2.04% ( $n = 6$ ),理枣仁保留时间的 $RSD$ 为0.93% ( $n = 6$ ),峰面积的 $RSD$ 为1.93% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

稳定性试验:分别取酸枣仁(编号为S1)、理枣仁(编号为L1)样品各适量,依法制备供试品溶液,分别于0,2,4,8,12,24 h时按2.3.2项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果酸枣仁保留时间的 $RSD$ 小于1.10%

( $n = 6$ ),峰面积的 $RSD$ 不大于2.00% ( $n = 6$ ),理枣仁保留时间的 $RSD$ 小于1.50% ( $n = 6$ ),峰面积的 $RSD$ 不大于2.00% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

耐用性试验:分别考察不同品牌[Caprisil 120Å  $C_{18}$ -(2)柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), Phenomenex  $C_{18}$ 柱(100 mm × 2.1 mm, 2.6 μm), Acquity UPLC®HSS  $T_3$ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)]的色谱柱,结果不同色谱柱测定的主成分含量的 $RSD$ 为2.03%;考察不同pH值、不同进样量、不同流动相比比例、不同柱温,结果得到的主成分含量的 $RSD$ 为1.52%。结果表明,方法耐用性良好。

加样回收试验:分别取已知含量的理枣仁(编号为L9)和酸枣仁(编号为S4)样品粉末(过4号筛)各1 g,精密称定,各6份,分别精密加入2.3.3项下对照品贮备液(质量浓度为0.877 8 mg/mL)0.5 mL和对照品溶液A(质量浓度为0.205 2 mg/mL)0.25 mL,按2.3.2项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算6'''-芥子酰斯皮诺素的加样回收率。结果见表4。

2.3.5 样品中6'''-芥子酰斯皮诺素含量测定

分别取酸枣仁(编号为S1-S10)、理枣仁(编号为L1-L10)样品各适量,精密称定,按2.3.3项下方法制备供试品溶液,按2.3.2项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果见表5。可见,理枣仁中6'''-芥子酰斯皮诺素的含量是酸枣仁的14~20倍,可用于二者的鉴别。

2.3.6 酸枣仁掺伪检测<sup>[12]</sup>

取10批(编号为S1-S10)酸枣仁,按总质量的5%加入理枣仁(编号为L9),混匀,各取2.0 g,精密称定,按2.3.3项下方法制备供试品溶液,按2.3.2项下试验

表5 酸枣仁和理枣仁中6'''-芥子酰斯皮诺素含量测定结果(μg/mL)

Tab. 5 Results of the content determination of 6'''-sinapoylspinosin in ZSS and ZMS (μg/mL)

| 样品  | 序号   |      |      |      |      |      |      |      |      |      | $\bar{X}$ |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------|
|     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   |           |
| 酸枣仁 | 0.19 | 0.21 | 0.23 | 0.27 | 0.25 | 0.27 | 0.22 | 0.21 | 0.20 | 0.23 | 0.23      |
| 理枣仁 | 2.68 | 3.14 | 3.95 | 3.62 | 4.03 | 4.09 | 3.85 | 4.19 | 3.41 | 4.07 | 3.70      |

表4 理枣仁和酸枣仁加样回收试验结果( $n = 6$ )

Tab. 4 Results of the recovery test of ZSS and ZMS ( $n = 6$ )

| 取样量(g)  |         | 样品含量(mg) |         | 加入量(mg) |         | 测得量(mg) |       | 回收率(%) |       | $\bar{X}$ (%) |       | $RSD$ (%) |      |
|---------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|-------|--------|-------|---------------|-------|-----------|------|
| 理枣仁     | 酸枣仁     | 理枣仁      | 酸枣仁     | 理枣仁     | 酸枣仁     | 理枣仁     | 酸枣仁   | 理枣仁    | 酸枣仁   | 理枣仁           | 酸枣仁   | 理枣仁       | 酸枣仁  |
| 1.010 4 | 1.000 1 | 0.582    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.02    | 0.099 | 94.60  | 93.76 |               |       |           |      |
| 1.012 2 | 1.000 3 | 0.583    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.03    | 0.101 | 96.54  | 97.66 |               |       |           |      |
| 1.015 6 | 1.000 1 | 0.585    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.05    | 0.102 | 100.43 | 99.61 | 97.80         | 97.01 | 2.09      | 2.15 |
| 1.027 9 | 1.000 5 | 0.592    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.05    | 0.099 | 98.92  | 93.76 |               |       |           |      |
| 1.003 2 | 1.000 7 | 0.578    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.03    | 0.101 | 97.62  | 97.66 |               |       |           |      |
| 1.012 8 | 1.000 2 | 0.583    | 0.050 9 | 0.463   | 0.051 3 | 1.04    | 0.102 | 98.70  | 99.61 |               |       |           |      |

表6 酸枣仁5%掺伪样品中6'''-芥子酰斯皮诺素含量测定结果( $\mu\text{g/mL}$ )

Tab. 6 Results of the content determination of 6'''-sinapoylspinosin in ZSS with 5% adulterated ZMS ( $\mu\text{g/mL}$ )

| 编号 | 来源 | 含量   | 编号  | 来源 | 含量   |
|----|----|------|-----|----|------|
| S1 | 东北 | 0.34 | S6  | 山西 | 0.43 |
| S2 | 山东 | 0.37 | S7  | 邢台 | 0.37 |
| S3 | 河北 | 0.38 | S8  | 邢台 | 0.37 |
| S4 | 佛山 | 0.43 | S9  | 山东 | 0.36 |
| S5 | 河北 | 0.41 | S10 | 河北 | 0.38 |

条件进样测定。结果见表6。

### 3 讨论

#### 3.1 方法的特点与适用性

性状鉴别法简便快速,适用于外观性状未破损的酸枣仁药材;显微鉴别法可用于酸枣仁药材的掺伪鉴别,也可用于粉末直接制剂的成方制剂中酸枣仁的掺伪鉴别。采用UPLC-MS/MS法确认特征物质6'''-芥子酰斯皮诺素<sup>[13]</sup>,利用特征物质在酸枣仁和理枣仁中含量的差异,可准确鉴别酸枣仁中掺伪理枣仁的情况,也可用于经过加工提取的产品(提取物或成方制剂)中投料真实性的鉴定。

#### 3.2 质谱条件选择

取6'''-芥子酰斯皮诺素对照品,加50%甲醇溶液溶解,制成质量浓度为 $5\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,经质谱蠕动泵进样,在正、负离子模式分别对6'''-芥子酰斯皮诺素进行扫描。结果显示,6'''-芥子酰斯皮诺素在正离子模式下产生的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 峰较强,质荷比( $m/z$  815)为准分子离子,以 $m/z$  815为母离子进行二级质谱扫描,找到3个响应信号稳定的子离子( $m/z$ 分别为207, 351, 429)<sup>[14]</sup>。通过调节锥孔电压及碰撞能量,选取丰度最强的离子( $m/z$ 为207)作为定量离子,丰度次强的离子( $m/z$ 分别为351和429)作为定性离子。经检测,酸枣仁和理枣仁样品中同时存在上述离子信息,且空白试剂无干扰<sup>[15]</sup>。

#### 3.3 流动相选择

本研究中分别考察了不同体积分数(0.05%, 0.1%, 0.2%)甲酸及不同浓度(5, 10 mmol/L)甲酸铵为水相进行梯度洗脱,发现以0.1%甲酸-10 mmol/L甲酸铵为水相进行梯度洗脱时6'''-芥子酰斯皮诺素色谱峰峰形理想,灵敏度高。故确定流动相A为0.1%甲酸-10 mmol/L甲酸铵。

#### 3.4 标准限量建议

对照品溶液按2.3.2项下试验条件测定的质量浓度为 $0.5058\mu\text{g/mL}$ ,故取质量浓度为 $0.5\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液C与供试品溶液同时进行检测,当供试品溶

液中6'''-芥子酰斯皮诺素的测定浓度高于对照品溶液时,即可认为酸枣仁中掺伪理枣仁。依据2020年版《中国药典(四部)》通则0212 药材和饮片鉴定通则中“……除另有规定外,药屑杂质通常不得过3%……”,以及质谱仪器自身的误差,拟订酸枣仁中掺伪理枣仁限度为5%,样品中6'''-芥子酰斯皮诺素测定质量浓度大于 $0.5\mu\text{g/mL}$ 可视为掺伪理枣仁<sup>[16]</sup>。

### 3.5 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、结果准确、重复性和稳定性均良好,可有效鉴别酸枣仁和理枣仁。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 382.
- [2] 张亚青, 李莎, 汪洋, 等. 生酸枣仁总黄酮的提取及HPLC法同时测定斯皮诺素和6'''-阿魏酰斯皮诺素[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(23): 198-202.
- [3] 刘薇, 李明华. 中药酸枣仁的真伪鉴别方法研究[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(9): 1629-1634.
- [4] 王雪, 杨光, 周修腾, 等. 酸枣仁、理枣仁及枳椇子的显微鉴别[J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(3): 9-12.
- [5] 云YPBZ-0068-2005, 云南省中药饮片标准(2005年版第一册)[S].
- [6] 李俊卿. 酸枣仁及其伪品理枣仁、兵豆、枳椇子的鉴别[J]. 光明中医, 2014, 29(3): 491-493.
- [7] 杨宝, 李忠华, 董培智, 等. 基于高分辨率溶解曲线技术鉴别酸枣仁及其混伪品理枣仁[J]. 中国药事, 2022, 36(11): 1267-1279.
- [8] 李葆林, 郝兰霞, 王鑫国, 等. UPLC-MS/MS法同时测定酸枣安神颗粒中15种成分[J]. 中成药, 2022, 44(6): 1751-1755.
- [9] 党友超, 孙庆文, 陈春伶, 等. 簇花清风藤的性状与显微鉴别研究[J]. 中药材, 2022, 45(11): 2592-2596.
- [10] 杨志雄, 江海燕, 卢忠朋, 等. 部分省市区售山楂饮片总黄酮含量分析[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(11): 26-27.
- [11] 李柯帆, 索晓雄, 李晓兰, 等. 多重位点特异性PCR同时鉴别酸枣仁及其掺伪品[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(2): 141-148.
- [12] 闫辉, 高欢, 崔清华, 等. HPLC同时测定桑白皮中4种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 53-56.
- [13] 刘晓俊, 张娥, 董丽荣, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间-质谱法鉴定舒肝散成分[J]. 中国药业, 2023, 32(9): 47-52.
- [14] 黄如玉, 唐瑞欣, 厉言. UPLC-MS/MS法同时测定连花清瘟胶囊中11种成分[J]. 中成药, 2023, 45(1): 24-28.
- [15] 黄兰洪, 张正炜, 陈秀, 等. 超高效液相色谱-串联质谱同时检测蔬菜和水果中30种农药残留[J]. 世界农药, 2021, 43(7): 46-53.
- [16] 赵丹彤, 高一军, 毕天琛, 等. 柴胡属饮片片藏柴胡掺伪检测方法研究[J]. 药学研究, 2022, 41(10): 653-658.

(收稿日期: 2022-02-23; 修回日期: 2023-09-26)