天津产与市售野生酸枣仁的质量比较研究

常广璐，李国辉，李天祥*
天津中医药大学，天津 300193

摘 要：目的 对天津产酸枣仁 *Ziziphi Spinosae Semen* 进行质量分析评价研究，并与市售其他产地的酸枣仁进行比较分析。**方法** 采用系统抽样结合区域分层抽样法采集天津 4 个区域 12 批酸枣野生样品，采用 HPLC 法测定其中的斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸的量。**结果** 天津产野生酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸量分别为 0.810～1.925、0.695～1.708、0.201～0.390、0.651～0.789 mg/g；河北承德酸枣仁白桦脂酸量最高，达到 1.654 mg/g。**结论** 天津产野生酸枣仁质量较优，其中八仙山酸枣仁质量优势尤为突出，其他 3 个区域与市场流通的酸枣仁药材平均质量水平相当。

关键词：酸枣仁；斯皮诺素；酸枣仁皂苷 A；酸枣仁皂苷 B；白桦脂酸
中图分类号：R286.2 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2015)05 - 0751 - 05
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.05.023

Comparison on quality of wild *Ziziphi Spinosae Semen* between marketed and produced in Tianjin

CHANG Guang-lu, LI Guo-hui, LI Tian-xiang
Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To analyze and evaluate the quality of *Ziziphi Spinosae Semen* produced in Tianjin and comparing with *Ziziphi Spinosae Semen* traded on the market in different places. **Methods** Twelve kinds of wild *Ziziphi Spinosae Semen* samples collected from the four represent regions were gathered by systematic combination of regional stratified sampling method and HPLC method was used to determine spinosin, jujuboside A, jujuboside B, and betulinic acid. **Results** The contents of spinosin, jujuboside A, jujuboside B, and betulinic acid from wild *Ziziphi Spinosae Semen* produced in Tianjin are 0.810—1.925, 0.695—1.708, 0.201—0.390, and 0.651—0.789 mg/g; *Ziziphi Spinosae Semen* produced in Chengde, Hebei province has the highest betulinic acid contents of 1.654 mg/g. **Conclusion** The quality of wild *Ziziphi Spinosae Semen* produced in Tianjin is excellent. What's more, the wild *Ziziphi Spinosae Semen* produced in Baxian Mountain, Tianjin takes particularly prominent advantages of better quality. Quality of wild *Ziziphi Spinosae Semen* produced in other three regions is equal to the average level of that traded on the market.

Key words: *Ziziphi Spinosae Semen*; spinosin; jujuboside A; jujuboside B; betulinic acid

酸枣仁 *Ziziphi Spinosae Semen* 为鼠李科（Rhamnaceae）植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种仁，具有养心补肝、宁心安神之功；用于虚烦不眠、惊悸多梦。近年来，随着酸枣仁抑菌和抗氧化[1]、抗癫痫[2]等药理作用的不断发现，药材需求量及其价格逐步攀升。酸枣仁道地产区为山西、河北、山东等地。《本草图经》记载其生河东（今山西、河北等地）川泽，今近京（今河南开封附近）及西北州郡皆有之。山东产酸枣仁商品药材产量大、质量优，素有“东枣仁”之称[3]。前期考察发现，天津蓟县北部山区野生酸枣资源蕴藏量较大，质量较优。当地将其开发为特色产品“莹丽”牌酸枣汁，但研究并不深入，尤其是质量评价方面研究未见报道。本研究以斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸 4 个活性成分为指标，比较天津产野生酸枣

收稿日期：2014-07-14
基金项目：天津市科技支撑计划项目（10ZCZDSY12400）；生多调查（环）：第四次全国中药资源普查天津试点
作者简介：常广璐（1991—），男，满族，在读硕士研究生，研究方向为中药质量控制与资源开发。E-mail: gulu19910910@163.com
***通信作者** 李天祥（1968—），男，副教授。Tel: (022)59596292 E-mail: litianxiang612@sina.com

仁与市场流通酸枣仁药材，旨在对天津产野生酸枣仁质量作出客观评价，为天津产野生酸枣仁进一步开发利用提供数据支撑。

1 材料

1.1 样品来源

1.1.1 野生酸枣仁样品采集 按照李天祥等[4]的天津中药资源考察方案，采用系统抽样结合分层抽样法，在天津蓟县盘山、黄崖关-九山顶、八仙山、九龙山 4 个代表区域中，设置 12 个采集地，于 2013 年 10 月采集 12 份野生酸枣果实样品，样品信息见表 1。

表 1 酸枣仁采样信息

Table 1 Information of *Ziziphi Spinosae Semen* samples

代表区域	产地编号	采集地位置	
盘山	P1	N：40°4.564′	E：117°15.408′
	P2	N：40°4.479′	E：117°15.272′
	P3	N：40°04.311′	E：117°15.666′
黄崖关-九山顶	H3	N：40°12.000′	E：117°24.757′
	H2	N：40°11.897′	E：117°24.661′
	H3	N：40°11.678′	E：117°29.536′
八仙山	B1	N：40°9.010′	E：117°32.923′
	B2	N：40°8.865′	E：117°33.093′
	B3	N：40°9.726′	E：117°32.780′
九龙山	J1	N：40°7.611′	E：117°30.654′
	J2	N：40°7.760′	E：117°30.710′
	J3	N：40°7.654′	E：117°30.880′

1.1.2 市场酸枣仁样品收集 市场流通商品药材来源较多，为保证样品的代表性，2013 年 12 月收集标明产地的酸枣仁样品 6 份以及未注明产地的样品 4 份。将产地为安徽亳州、河北赞皇、河北邢台、河北承德、山东济南、山西运城的样品分别编号为 SH1～6；另外 4 个未注明产地样品分别编号为 W1～4。

1.1.3 药材的鉴定和加工处理 野生样品由天津中医药大学李天祥副教授鉴定为酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的成熟果实；市场收集的样品为酸枣的干燥成熟种仁。野生酸枣样品除去果肉和核壳，得到酸枣仁样品，全部酸枣仁样品于 55 ℃烘干至恒质量，粉碎，过四号筛，备用。

1.2 仪器与试药

美国 Alltech 1500 系列高效液相色谱仪，配置 B05 型高压梯度泵、UV 1000 型紫外可见检测器、2000 ES 型蒸发光散射检测器、CSChrom Plus 色谱工作站；SB25-12DT 超声波清洗器（宁波新芝生物科技股份有限公司）；YHG-600-BS-II 型远红外快速干燥箱（上海贺德实验设备有限公司）；FA 2104 电子天平（上海舜宇恒平科技仪器有限公司）；eTrexVenture HC GPS 接收机（北京佳明航电科技有限公司）。

斯皮诺素对照品（批号 MUST-13011809）、酸枣仁皂苷 A 对照品（批号 MUST-12042301）、酸枣仁皂苷 B 对照品（批号 MUST-13042302）、白桦脂酸对照品（批号 MUST-11090502）均购于成都曼思特生物科技有限公司，质量分数均大于 98%；乙腈、甲醇均为色谱纯，购于天津市福晨化学品有限公司；纯净水为天津娃哈哈食品有限公司生产，其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 对照品储备液的制备

精密称取斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸对照品适量，加甲醇分别配制成含斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸各 0.542、0.272、0.652、0.382 mg/mL 的对照品储备液。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取各样品粉末 1.0 g，置索式提取器中，加石油醚（60～90 ℃）100 mL，90 ℃加热回流 6 h，弃去石油醚液，药渣挥去溶剂，转移至三角瓶中，加入 70%乙醇 20 mL，90 ℃加热回流 2 h，滤过，滤渣用 70%乙醇 10 mL 洗涤，合并洗液与滤液，溶剂回收至干，残渣转移到 5 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液（斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 测定用）。

精密称取各样品粉末 0.5 g，置三角瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称质量。70 ℃加热回流 2 h，放冷，用甲醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液 II（白桦脂酸测定用）。

2.3 色谱条件

2.3.1 测定斯皮诺素的色谱条件 Diamonsil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱；流动相为乙腈（A）-水（B），梯度洗脱：0～10 min，20%～25% A；10～16 min，25%～27% A；16～19 min，27%～100% A；19～22 min，100%～20% A；20～30 min，20%

A；体积流量 1.0 mL/min；柱温为室温；进样量 10 μL；检测波长 335 nm。

2.3.2 测定酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 的色谱条件 Diamonsil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱；流动相为乙腈（A）-水（B），梯度洗脱：0～15 min，20%～40% A；15～28 min，40% A；28～30 min，40%～30% A；30～32 min，30%～20% A；32～40 min，20% A；体积流量 1.0 mL/min；柱温为室温；进样量 20 μL；ELSD 漂移管温度：115 ℃；载气流量：2.9 L/min，碰撞阀关闭。

2.3.3 测定白桦脂酸的色谱条件 Diamonsil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱；流动相为乙腈（A）-0.3%冰乙酸（B），梯度洗脱：0～4 min，40%～70% A；4～14 min，70%～100% A；14～17 min，100%～31% A；17～21 min，31% A；21～23 min，31%～40% A；23～30 min，40% A；体积流量 1.0 mL/min；柱温为室温；进样量 20 μL；ELSD 漂移管温度 100 ℃；载气流量 2.5 L/min，碰撞阀关闭。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.1”项下斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸对照品储备液各 10、20、20、20 μL，加甲醇稀释制备成斯皮诺素质量浓度分别为 54.2、108.4、216.8、271.0、406.5、542.0 μg/mL；酸枣仁皂苷 A 质量浓度分别为 27.2、54.4、108.8、163.2、217.6、272.0 μg/mL；酸枣仁皂苷 B 质量浓度分别为 19.6、39.1、58.7、97.8、130.4、195.6 μg/mL；白桦脂酸质量浓度分别为 7.6、15.3、30.6、45.8、61.1、76.4 μg/mL 系列对照品溶液。在“2.3”项各色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X），绘制斯皮诺素标准曲线，得斯皮诺素回归方程；以峰面积对数值为纵坐标（Y），进样量对数值为横坐标（X），绘制标准曲线，得酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸回归方程，各回归方程见表 2。

表 2 酸枣仁中 4 个指标成分的回归方程、相关系数和线性范围

Table 2 Regression equations, correlation coefficients, and liner ranges of four index components in *Ziziphi Spinosae Semen*

成分	回归方程	R^2	线性范围/μg
斯皮诺素	$Y=1.3\times10^6X-43\,634$	0.999 8	0.542 0～5.420
酸枣仁皂苷 A	$Y=1.402\,0X+5.455\,6$	0.999 3	0.544 0～5.440
酸枣仁皂苷 B	$Y=1.183\,6X+5.423\,2$	0.999 4	0.392 0～3.912
白桦脂酸	$Y=1.839\,5X+5.947\,9$	0.999 3	0.152 8～1.528

2.5 精密度试验

分别精密吸取浓度为 216.8 μg/mL 斯皮诺素、108.8 μg/mL 酸枣仁皂苷 A、58.7 μg/mL 酸枣仁皂苷 B、45.8 μg/mL 白桦脂酸对照品溶液各 10、20、20、20 μL，连续进样 6 次，测得斯皮诺素峰面积的 RSD 为 0.72%；计算得酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 和白桦脂酸峰面积对数值的 RSD 分别为 0.43%、0.25%、0.12%。

2.6 重复性试验

取同一样品按“2.2”项方法制备 6 份供试品溶液 I、II，在“2.3”项下方法测定，计算得斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 和白桦脂酸质量分数的 RSD 分别为 1.84%、2.53%、2.68%、0.49%。

2.7 稳定性试验

取一样品，按“2.2”项下方法各制备 1 份供试品溶液 I、II，在各方法下于 2、4、6、8、10、12 h 测定峰面积，计算得斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 和白桦脂酸质量分数的 RSD 分别为 0.53%、2.33%、2.98%、2.79%。

2.8 加样回收率试验 精密称量已测定样品，分别加入对照品储备液适量，按“2.2”项下制备，在各方法下进样测定，计算得斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷B、白桦脂酸平均回收率分别为 102.09%（RSD＝0.95%）、100.83%（RSD＝2.06%）、98.94%（RSD＝1.32%）、99.66%（RSD＝1.90%）。对照品及样品色谱图见图 1。

2.9 定量测定

取不同产地的酸枣仁样品按各方法制备供试品溶液，在各方法下进样分析，重复 3 次，按回归方程计算 4 个指标成分质量分数，取算术平均值。

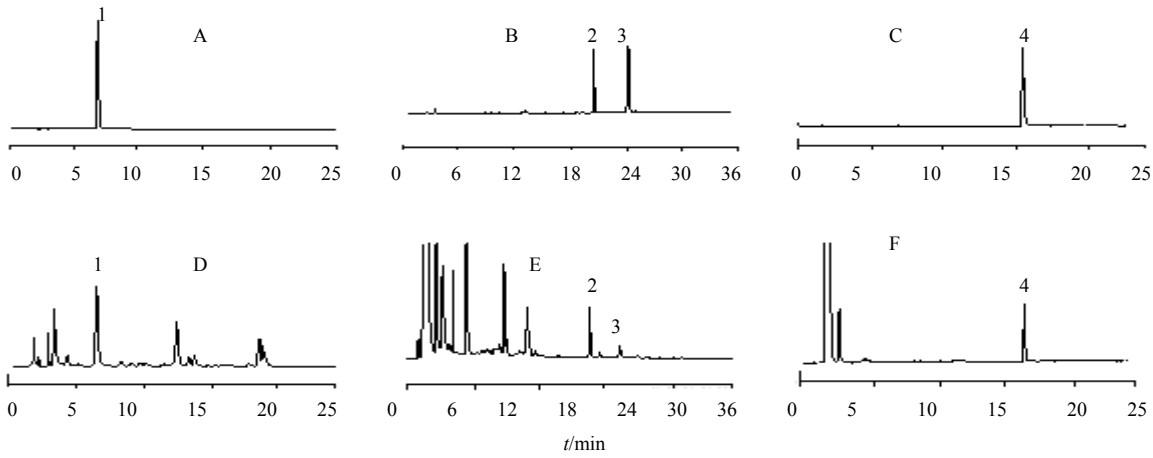
2.10 数据分析

数据采用 Excel 及 SPSS 19.0 进行常规处理。

3 结果与分析

3.1 斯皮诺素的测定结果

蓟县八仙山产酸枣仁中斯皮诺素量远远高于其他产地。《中国药典》2010 年版[5]规定酸枣仁含斯



1-斯皮诺素　2-酸枣仁皂苷 A　3-酸枣仁皂苷 B　4-白桦脂酸

1-spinosin　2-jujuboside A　3-jujuboside B　4-betulinic acid

图 1　对照品 (A、B、C) 和酸枣仁样品 (D、E、F) HPLC 色谱图

Fig. 1　HPLC of reference substances (A, B, and C) and *Ziziphi Spinosae Semen* sample (D, E, and F)

皮诺素≥0.08%，盘山、黄崖关-九山顶、八仙山、九龙山 4 个代表区域酸枣仁样品测定结果分别为（0.877±0.047）、（0.810±0.048）、（1.925±1.008）、（0.872±0.035）mg/g，全部达标。查阅相关文献发现[6]，目前酸枣仁药材中斯皮诺素量最高者黑龙江双鸭山为（2.499±0.030）mg/g，八仙山代表区域 B1 样地酸枣仁样品斯皮诺素量最高达（2.624±0.086）mg/g，3 个样地平均值（1.925±1.008）mg/g，是《中国药典》2010 年版规定的 2.38 倍，约为市场流通样品的 1.73 倍，高于道地产区河北承德的（1.141±0.010）mg/g、山东济南的（1.049±0.008）mg/g、山西运城的（1.094±0.038）mg/g，且差异极显著。其余 3 个代表区域样品与市场流通样品相比，斯皮诺素量无显著性差异。市场流通酸枣仁样品含斯皮诺素在（0.962±0.014）～（1.168±0.013） mg/g，结果见表 3。

3.2　酸枣仁皂苷 A 的测定结果

蓟县八仙山产酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 量同样远高于其他产地。《中国药典》2010 年版规定酸枣仁含酸枣仁皂苷 A≥0.03%，盘山、黄崖关-九山顶、八仙山、九龙山 4 个代表区域酸枣仁样品测定结果分别为（0.695±0.060）、（0.775±0.055）、（1.708±0.517）、（0.727±0.093）mg/g。据现有文献记载[6]，酸枣仁中

表 3　酸枣仁样品中 4 个指标成分测定结果

Table 3　Determination of four index components in samples of *Ziziphi Spinosae Semen*

编号	斯皮诺素/(mg·g^{-1})	酸枣仁皂苷 A/(mg·g^{-1})	酸枣仁皂苷 B/(mg·g^{-1})	白桦脂酸/(mg·g^{-1})
盘山	0.877±0.047	0.695±0.060	0.297±0.068$^{**▲}$	0.740±0.034
黄崖关-九山顶	0.810±0.048	0.775±0.055	0.201±0.026	0.697±0.117
八仙山	1.925±1.008$^{△△}$	1.708±0.517$^{△△}$	0.390±0.112**	0.789±0.074
九龙山	0.872±0.035	0.727±0.093	0.230±0.010$^{▲▲}$	0.651±0.098$^{▲▲}$
SH1	0.962±0.014	0.830±0.023	0.251±0.001	0.747±0.004
SH2	1.168±0.013	0.815±0.017	0.221±0.005	0.694±0.003
SH3	1.030±0.006	0.675±0.009	0.336±0.005	0.684±0.018
SH4	1.141±0.010	0.692±0.012	0.356±0.003	1.654±0.032$^{△△}$
SH5	1.049±0.008	0.763±0.016	0.431±0.008	0.798±0.012
SH6	1.094±0.038	0.826±0.025	0.286±0.006	0.806±0.027
W1	1.086±0.019	0.789±0.027	0.158±0.001	0.694±0.025
W2	1.072±0.003	0.764±0.025	0.237±0.008	0.682±0.018
W3	1.064±0.013	0.763±0.010	0.325±0.002	0.777±0.005
W4	1.012±0.010	0.623±0.018	0.405±0.011	0.798±0.025

与不同样品相比：$^{△△}P$<0.01；与黄崖关-九山顶代表区域比较：$^{**}P$<0.01；与八仙山代表区域比较：$^{▲}P$<0.05　$^{▲▲}P$<0.01

$^{△△}P$ < 0.01 *vs* different samples; $^{**}P$ < 0.01 *vs* regional Huangyaguan-Jiushanding; $^{▲}P$ < 0.05　$^{▲▲}P$ < 0.01 *vs* regional Baxianshan

酸枣仁皂苷 A 量最高为（0.98±0.05）mg/g（河北安国），八仙山代表区域酸枣仁样品酸枣仁皂苷 A 量在（1.035±0.030）～（2.164±0.062）mg/g，平均值为（1.708±0.517）mg/g，是《中国药典》2010 年版规定的 5.67 倍，约为市场流通样品的 2.13 倍，高于河北承德（0.692±0.012）mg/g、山东济南（0.763±0.016）、mg/g 山西运城（0.826±0.025）mg/g 道地产区且差异极显著。其余 3 个代表区域样品与市场流通样品相比，酸枣仁皂苷 A 量无显著性差异。市场流通酸枣仁样品中酸枣仁皂苷 A 量在 0.623～0.830 mg/g，测定结果见表 3。

3.3 酸枣仁皂苷 B 的测定结果

4 个代表区域酸枣仁中酸枣仁皂苷 B 量与其他产地相当。查阅相关文献发现[6]，液相色谱法测定有产地记载的 145 个酸枣仁样品中，酸枣仁皂苷 B 量最高可达（0.959±0.01）mg/g（甘肃庆阳），平均值为 0.274 mg/g。比较测定结果可知，八仙山、盘山代表区域酸枣仁皂苷 B 量较高，其中八仙山代表区域 B2 样地最大，为（0.485±0.010）mg/g。黄崖关-九山顶和九龙山代表区域测定结果则较低，黄崖关-九山顶与盘山、八仙山相比差异极显著；九龙山与盘山相比差异显著，与八仙山相比差异极显著；盘山与八仙山相比有显著性差异。市场流通样品酸枣仁皂苷 B 量在 0.158～0.405mg/g，测定结果见表 3。

3.4 白桦脂酸的测定结果

4 个代表区域酸枣仁中白桦脂酸量同样与其他产地相当。迄今为止，有关酸枣仁中白桦脂酸量测定方面研究报道尚少[7]，HPLC 法测定有产地记载的 61 个酸枣仁样品中，白桦脂酸在 0.177～7.350 mg/g，平均值为 1.980 mg/g。对比本实验结果可知，河北承德样品测定值最大为（1.654±0.032）mg/g，与其他样品相比差异极显著。4 个代表区域的测定结果均较低，除九龙山与八仙山相比有极显著性差异外，与除河北承德样品之外其他市场流通药材相比，差异不明显。市场流通样品白桦脂酸量在 0.682～1.654 mg/g，结果见表 3。

4 讨论

基于 4 个指标成分测定结果可以看出，天津野生酸枣仁质量较好，八仙山代表区域所产酸枣仁质量优势尤为突出，不仅《中国药典》2010 年版规定的检测成分斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 量远高于其他代表区域、商品药材，而且 4 个指标成分总量更是全部样品中最高的。李化等[8]在论述植物物候学指导中药材采收期的研究中指出，种子类药材宜在种子完全成熟、籽粒饱满时采收，才能保证所采药材质量最好；武延生等[9]在比较不同产地酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 量时发现，“抢青”可能造成酸枣仁皂苷 A 的积累减少，由此可见，适时采收，保证采样的平行性是实验结果科学、准确的前提条件。2013 年 10 月采样时发现，蓟县野生酸枣“抢青”现象普遍存在，九龙山地区最为明显，八仙山受影响较小，这可能也是各代表区域之间酸枣仁质量差异较大的原因之一。此外，酸枣仁质量还受产地气候因素影响，2013 年蓟县雨量丰沛，这对旱生植物酸枣带来的影响尚需进一步研究。

本实验对石油醚脱脂时间、提取方法进行了优化。确定 90 ℃脱脂 6 h，指标成分无损失且分离度良好；白桦脂酸得率，回流法大于超声法，但测定结果与文献记载的相比偏低。此外，本实验采用的 ELSD 条件也为优化后的结果。

参考文献

[1] 孙延芳, 梁宗锁, 刘 政, 等. 酸枣果三萜皂苷抑菌和抗氧化活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 139-142.

[2] Yoon S R, Jo Y J, Yang S L, *et al*. Sanjoinine A isolated from *Semen Zizyphi Spinosi* protects against kainic acid-induced convulsions [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(11): 1515-1523.

[3] 张照荣, 周凤琴, 李建秀, 等. 酸枣仁品种整理及质量研究 [J]. 山东中医药大学学报, 1997, 21(5): 388-391.

[4] 李天祥, 李国辉, 张春艳, 等. 天津黄精属植物的资源考察 [J]. 天津中医药, 2013, 30(12): 749-753.

[5] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[6] 鲍康德, 李 萍, 李会军, 等. HPLC-ELSD 法同时测定酸枣仁中黄酮及皂苷类成分 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(1): 47-53.

[7] 吴 闯, 张 健, 殷志琦. HPLC 测定酸枣仁中白桦脂酸的含量 [J]. 药物生物技术, 2010, 17(3): 244-246.

[8] 李 化, 黄璐琦, 杨 滨. 论植物物候学指导中药材采收期的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(19): 1441-1444.

[9] 武延生, 董丽丽, 王僧虎, 等. 不同产地的酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 含量的比较研究 [J]. 黑龙江农业科学, 2013(11): 108-111.