

鳖甲胶特征肽的发现及其在龟甲胶中鳖甲胶成分检测上的应用



潘志文, 黄婉锋

广东省佛山市食品药品检验检测中心 (广东佛山 528051)

【摘要】目的 寻找可以区分鳖甲胶、龟甲胶两种不同来源动物胶的特征肽, 并建立龟甲胶中掺杂鳖甲胶成分的检测方法。**方法** 利用胰蛋白酶对鳖甲胶和龟甲胶样品进行酶切, 使用超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用 (UPLC-QQQ/MS) 技术分别测定鳖甲胶和龟甲胶的肽图, 对肽图进行比对分析, 找出在鳖甲胶中响应强但在龟甲胶中无响应或响应极弱的分子离子, 并采用质谱多反应监测技术对这些分子离子进行检测, 通过专属性验证得到两个鳖甲胶特征肽。将这两个鳖甲胶特征肽作为鳖甲胶的鉴别特征, 对龟甲胶样品进行测定。**结果** 在鳖甲胶样品中检出了新发现的两个鳖甲胶特征肽, 在龟甲胶、鹿角胶、鹿皮胶、阿胶、猪皮胶、牛皮胶、马皮胶、羊皮胶、骆驼皮胶样品中均未检出这两个鳖甲胶特征肽。该方法的检出限度为含 0.5% 鳖甲胶的龟甲胶样品。对 11 批龟甲胶样品进行检测, 仅 1 批样品检出了鳖甲胶特征肽。**结论** 所建立的方法专属性强、灵敏度高, 可用于鳖甲胶的鉴别及龟甲胶中鳖甲胶成分的检测。

【关键词】 龟甲胶; 鳖甲胶; 鳖甲胶特征肽; 超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用

【中图分类号】 R286.0

【文献标识码】 A

The discovery of turtle-shell gelatin specific peptides and its application in the detection of turtle-shell gelatin in tortoise-shell gelatin

PAN Zhiwen, HUANG Wanfeng

Foshan Food and Drug Inspection and Testing Center, Foshan 528051, Guangdong Province, China

Corresponding author: PAN Zhiwen, Email: panzhiwen@163.com

【Abstract】Objective To search for specific peptides which can distinguish between turtle-shell gelatin and tortoise-shell gelatin, and to establish a detection method for turtle-shell gelatin mixed in tortoise-shell gelatin. **Methods** Using trypsin to cleave samples of turtle-shell gelatin and tortoise-shell gelatin, the peptide chromatogram of turtle-shell gelatin and tortoise-shell gelatin were determined using ultra-high performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQ/MS). The peptide chromatogram were compared and analyzed to find out the molecular ions with strong response in turtle-shell gelatin, but no response or very weak response in tortoise-shell gelatin, and these molecular ions were detected by mass spectrometry multi-reaction monitoring technology, and two specific peptides of turtle-shell gelatin were obtained through specificity verification, and they were used as identification features of turtle-shell gelatin to determine the tortoise-shell gelatin sample. **Results** Two new specific peptides of turtle-shell gelatin were detected in the samples of turtle-shell

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202404194

基金项目: 广东省药品抽检指定品种评价性抽检项目 (粤药监办执法 [2023]47 号); 2024 年佛山市自筹经费类科技创新项目 (2420001003728)

通信作者: 潘志文, 副主任药师, Email: panzhiwen@163.com

gelatin, but they were not detected in the samples of tortoise-shell gelatin, deer-antler gelatin, deer-hide gelatin, ass-hide gelatin, pig-hide gelatin, cattle-hide gelatin, horse-hide gelatin, sheep-hide gelatin and camel-hide gelatin. The detection limit of this method was for tortoise-shell gelatin samples containing 0.5% turtle-shell gelatin. Eleven batches of tortoise-shell gelatin samples were tested, and turtle-shell specific peptides were detected in only one batch of samples. **Conclusion** The established method has strong specificity and high sensitivity, and can be used for the identification of turtle-shell gelatin and the detection of turtle-shell gelatin mixed in tortoise-shell gelatin.

【Keywords】 Tortoise-shell gelatin; Turtle-shell gelatin; Specific peptide of turtle-shell gelatin; Ultra-high performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry

龟甲胶为龟科动物乌龟 *Chinemys reevesii* (Gray) 的背甲及腹甲经水煎煮、浓缩制成的固体胶, 具有滋阴、养血、止血的功效^[1]。鳖甲胶为鳖科动物鳖 *Trionyx sinensis* Wiegmann 的背甲经煎煮、浓缩制成固体胶, 具有滋阴补血、退热消瘀的功效^[1-2]。随着人民生活水平的提高及大健康理念的普及与推广, 人们对于养生补益类中药的需求不断增加, 其中胶类中药以其独特的滋补功效备受消费者青睐, 在中医临床和养生保健方面应用广泛。随着需求地不断增加, 价格随之攀升。由于生产原料短缺, 导致市场上胶类中药质量参差不齐, 掺伪和造假的情况相当严重, 严重危害了行业健康发展及人民群众的身体健康^[3-4]。国家药品监督管理局先后发布了龟甲胶中牛皮源、驴皮源和猪皮源成分检查项补充检验方法^[5-6], 对龟甲胶中可能掺杂牛皮源、驴皮源和猪皮源成分的行为进行检查。据文献^[7-9]报道, 胶类中药掺伪掺杂的杂皮种类已扩展到了马皮、骆驼皮、羊皮、鹿皮等其他动物皮。龟甲胶和鳖甲胶同为用甲熬制而成的胶类中药, 两者的原料饮片性状有一定相似性。鳖的养殖更广, 而龟甲胶的应用则更普遍, 龟甲胶中可能存在混入鳖甲胶的风险。本研究重点找出鳖甲胶的特征肽, 并将其应用在鳖甲鉴别或在龟甲中掺入鳖甲作为原料制备龟甲胶的风险监测上。

1 材料

1.1 主要仪器

Xevo-TQ 超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国沃特世公司); ME204T 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); SPX-150C 恒温恒湿箱(上海博迅实业有限公司); KQ-400GKDV 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

对照药材: 龟甲胶(批号: 121693-201702)、鹿角胶(批号: 121694-201702)、阿胶(批号: 121274-201904)、新阿胶(批号: 121745-201701)、黄明胶(批号: 121695-201802)均购自中国食品药品检定研究院; 鳖甲胶、鹿皮胶、马皮胶、骆驼皮胶、羊皮胶对照样品(自制: 取各动物背甲或去毛的鲜皮, 去除残肉和脂肪, 切块, 漂洗后加水分 3 次煎煮, 共煎煮约 72 h, 合并提取液, 浓缩至稠膏状, 减压干燥至干, 研细^[1-2]); 碳酸氢铵(阿拉丁, 批号: J2116086); 胰蛋白酶(源叶生物, 批号: G20A10Y86455, 序列分析用); 乙腈为色谱纯, 甲酸为质谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水; 11 批龟甲胶样品来自于 10 家生产企业, 均标示为药准字产品, 具体见表 1。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 对照溶液、检出限试验溶液和参比溶液

精密称取龟甲胶、鹿角胶、阿胶、新阿胶、黄明胶对照药材及鳖甲胶、鹿皮胶、马皮胶、骆驼皮胶、羊皮胶自制对照样品各 0.10 g, 分别置 50 mL 量瓶中, 加 1% 碳酸氢铵溶液 40 mL, 超声(功率: 500 W, 频率: 45 kHz)处理 30 min, 使样品完全溶解, 再加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液。

精密量取鳖甲胶对照溶液 0.1、0.2、0.5、1、2、5 mL, 分别置 100 mL 量瓶中, 加入龟甲胶对照药材粉末 0.20 g, 加 1% 碳酸氢铵溶液 80 mL, 超声(功率: 500 W, 频率: 45 kHz)处理 30 min, 使样品完全溶解, 再加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为龟甲胶中鳖甲胶检出限试验溶液。

表1 样品信息
Table 1. Sample information

样品编号	批号	规格	标示企业所在地	企业代号
GLY-G01	211105	—	湖南	A
GLY-G02	22020104	每块重6 g	山西	B
GLY-G03	2203051049	—	湖北	C
GLY-G04	519001	每盒装250 g	山西	D
GLY-G05	201001	—	新疆	E
GLY-G06	200909	250 g/盒	湖南	A
GLY-G07	20220408	126 g/盒	湖南	F
GLY-G08	21030905	每盒装125 g	河南	G
GLY-G09	220425	每盒装250 g	河南	H
GLY-G10	211102	每盒装250 g	河南	I
GLY-G11	20220522	—	山东	J

注：“—”代表产品包装未标注该项信息。

精密称取鳖甲胶对照样品 0.010 g 与龟甲胶对照药材 0.090 g，置同一个 50 mL 量瓶中，同法制成含 10% 鳖甲胶的龟甲胶参比溶液。

2.1.2 供试品溶液和空白试验溶液

精密称取 11 批龟甲胶样品粉末各 0.10 g，分别置 50 mL 量瓶中，加 1% 碳酸氢铵溶液 40 mL，超声（功率：500 W，频率：45 kHz）处理 30 min，使样品完全溶解，再加 1% 碳酸氢铵溶液稀释至刻度，摇匀，即得。不取样品，其余操作同供试品溶液，制得空白试验溶液。

2.2 酶解试验

精密量取上述溶液 1 mL，置进样瓶中，精密加入胰蛋白酶溶液 100 μL（取序列分析用胰蛋白酶，加 1% 碳酸氢铵溶液制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液，临用新制），摇匀，37 ℃恒温酶解 15 h，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.3 分析条件

2.3.1 色谱条件

色谱柱 1（用于肽图测定及专属性验证）：Waters Acquity UPLC Peptide CSH C₁₈ 柱（100 mm × 2.1 mm，1.7 μm）；色谱柱 2（用于样品测定）：Waters BEH C₁₈ 柱（50 mm × 2.1 mm，1.7 μm）；流动相：0.1% 甲酸水溶液（A）-0.1% 甲酸乙腈溶液（B），梯度洗脱（肽图测定及专属性验证梯度洗脱程序见表 2，样品测定梯度洗脱程序见表 3）；流速：0.3 mL/min；柱温：30 ℃；进样量：2 μL。

2.3.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源；离子源温度：150 ℃；毛细管电压：1 kV；脱溶剂温度：500 ℃；

脱溶剂气体流速：800 L/h；锥孔气体流速：50 L/h。

肽图测定：采集模式：正离子全扫描；扫描质量数范围：*m/z* 250~1 250；采集时间范围：0~40 min；锥孔电压：20 V；数据采集模式：continuum；采集频率：0.5 s。

样品测定：采集模式：正离子多反应监测（multiple reaction monitoring, MRM），具体参数见表 4。

表2 肽图测定及专属性验证梯度洗脱程序
Table 2. Gradient elution program of peptide mapping determination and specificity verification

时间（min）	流动相A（%）	流动相B（%）
0~25	98~80	2~20
25~40	80~50	20~50
40~41	50~2	50~98
41~45	2	98
45~46	2~98	98~2
46~60	98	2

表3 样品测定梯度洗脱程序
Table 3. Gradient elution program of sample determination

时间（min）	流动相A（%）	流动相B（%）
0~12.5	98~80	2~20
12.5~20	80~50	20~50
20~21	50~2	50~98
21~22.5	2	98
22.5~23	2~98	98~2
23~30	98	2

2.4 鳖甲胶特征肽的发现

取鳖甲胶及龟甲胶的酶解液，分别进样，采集两个样品的全扫描总离子流图（肽图）^[10]。对两个图谱分别提取质谱信息进行比对，共找出 43 个在鳖甲胶肽图中响应较高，但在龟甲胶肽图中

表4 MRM 参数
Table 4. MRM parameters

特征肽归属	特征肽代号	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
鳖甲	BJJtzt-536(N)	536.1	143.0	25	24
			643.3*	25	20
	BJJtzt-655(N)	655.2	569.7*	30	22
			727.2	30	30
龟甲	GJJtzt-631(S)	631.3	546.4*	30	20
			921.4	30	25

注：*为定量离子。

不存在或响应极低的“母离子”。对这 43 个“母离子”分别进行子离子扫描，其中 33 个能建立 MRM 方法。用该 MRM 方法对鳖甲胶及龟甲胶的酶解液进行测定，从中选出 16 组龟甲胶中无或比在鳖甲胶中含量低很多的离子对，采用这 16 组离子对的 MRM 法对所有纳入考察范围的动物胶酶解液进行测定，最后筛选出 2 个能区分鳖甲

胶与龟甲胶，且在考察的动物胶范围内同时也具备专属性的鳖甲胶特征肽。

图 1 为鳖甲胶和龟甲胶的全扫描总离子流图（肽图），图 2 为截取 4~12 min 时间范围的全扫描总离子流图（肽图），鳖甲胶与龟甲胶的肽图无论是从全局还是局部来看，相似度均较高。图 3 和图 4 为 7.75~8.25 min 范围提取的质谱图及其局

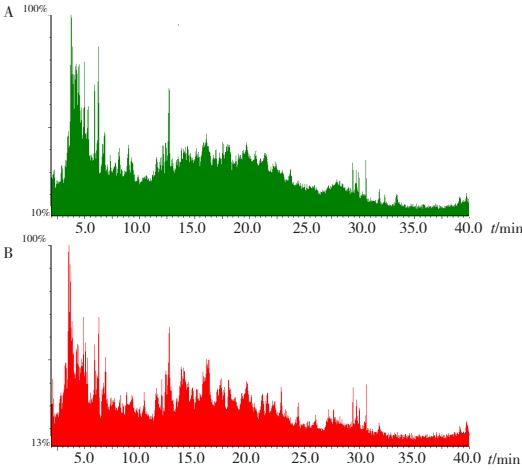


图1 总离子流图（2~40 min）
Figure 1. Total ion chromatogram (2–40 min)
注：A. 鳖甲胶；B. 龟甲胶。

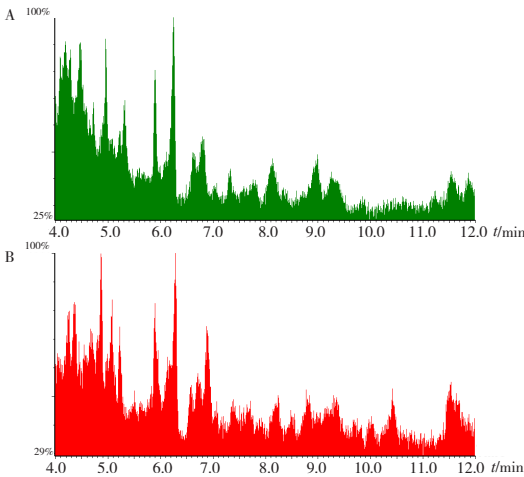


图2 总离子流图（4~12 min）
Figure 2. Total ion chromatogram (4–12 min)
注：A. 鳖甲胶；B. 龟甲胶。

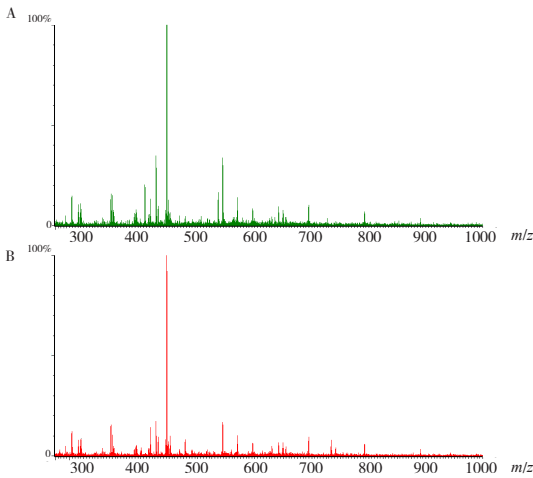


图3 提取的质谱（7.75~8.25 min, *m/z* 250~1 000）
Figure 3. MS spectrum (7.75–8.25 min, *m/z* 250–1 000)
注：A. 鳖甲胶；B. 龟甲胶。

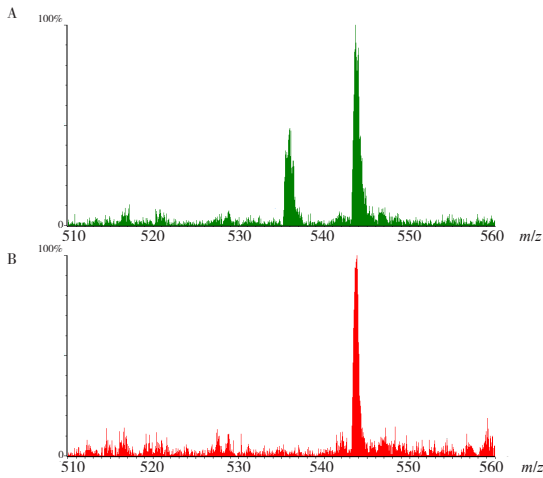


图4 提取的质谱图（7.75~8.25 min, *m/z* 510~560）
Figure 4. MS spectrum (7.75–8.25 min, *m/z* 510–560)
注：A. 鳖甲胶；B. 龟甲胶。

部放大图, 两个图在 m/z 536 处存在明显差异, 龟甲胶在该处无响应, 该母离子为最后确定作为鳖甲胶特征肽的两个特征肽其中之一的母离子。

2.5 鳖甲胶特征肽的MRM参数及专属性考察

新发现的两个鳖甲胶特征肽的 MRM 方法参数见表 4。取酶解后的空白试验溶液及鳖甲胶、龟甲胶、鹿皮胶、鹿角胶、阿胶、新阿胶、黄明胶、马皮胶、骆驼皮胶、羊皮胶对照溶液进样测定。各样品溶液在各监测通道的出峰情况见图 5 所示, 新发现的两个鳖甲胶特征肽均只在鳖甲胶中检出, 具有较强的专属性。

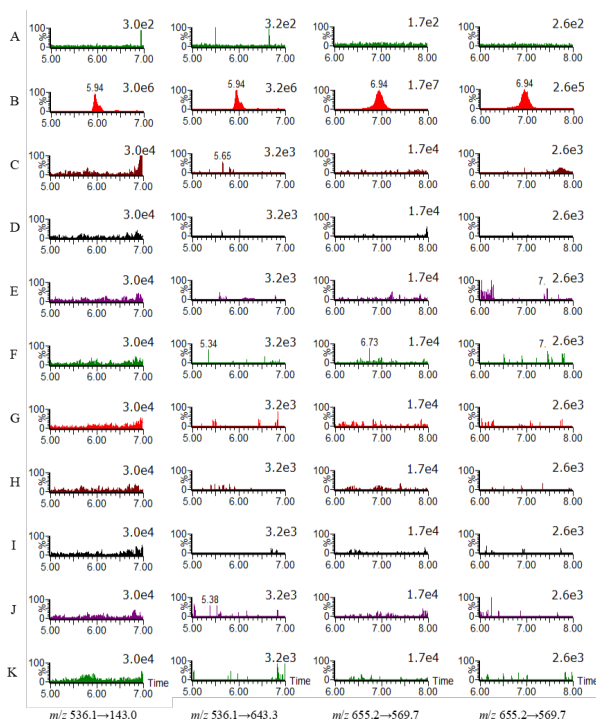


图5 专属性验证MRM色谱图

Figure 5. MRM chromatograms of specificity validation

注: A. 空白; B. 鳖甲胶; C. 龟甲胶; D. 鹿角胶; E. 鹿皮胶; F. 阿胶; G. 新阿胶; H. 黄明胶; I. 马皮胶; J. 羊皮胶; K. 骆驼皮胶。

2.6 检出限测定

取酶解后的龟甲胶中鳖甲胶检出限试验溶液进样测定, 以信噪比为 3 的响应较弱的离子对色谱峰对应的鳖甲胶浓度作为方法检出限。结果 BJJtzt-536(N) 和 BJJtzt-655(N) 的方法检出限均为龟甲胶中含 0.5% 的鳖甲胶。杂皮检查目前通行的限度是 5%, 该法检出限满足应用的要求。

2.7 酶解重复性、进样精密度、稳定性考察

精密吸取“2.1.1”项下制备的含 5% 鳖甲胶

的检出限试验溶液 6 份, 每份 1 mL, 平行酶解, 按“2.3.2”和“2.5”项下的参数测定。以两个鳖甲胶特征肽定量离子对峰面积的 RSD 评价酶解过程的重复性, 结果 BJJtzt-536(N) 的 RSD 为 3.0% ($n=6$), BJJtzt-655(N) 的 RSD 为 2.8% ($n=6$), 结果表明该法重复性良好。

取上述其中 1 份酶解液, 连续进样 6 次, 同法测定, 以两个鳖甲胶特征肽定量离子对的保留时间及峰面积的 RSD 分别评价定性精密度和定量精密度, 结果 BJJtzt-536(N) 保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.6% 和 3.4% ($n=6$), BJJtzt-655(N) 保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.3% 和 1.5% ($n=6$), 结果表明该仪器精密度良好。

取上述其中 1 份酶解液, 分别于 0、4、8、12、24 h 进样, 同法测定, 以两个鳖甲胶特征肽定量离子对峰面积的 RSD 评价稳定性, 结果 BJJtzt-536(N) 的 RSD 为 5.2% ($n=5$), BJJtzt-655(N) 的 RSD 为 2.1% ($n=5$), 结果表明该法稳定性良好。

2.8 方法耐用性考察

分别取自制的鳖甲胶对照样品及 4 批不同企业生产的鳖甲胶样品, 按“2.1.2”和“2.2”项下的方法制样及酶解, 按“2.3.2”和“2.5”项下的参数测定。计算 5 批鳖甲胶的特征肽定量离子对峰面积平均值及各批鳖甲胶的特征肽定量离子对峰面积相对于平均值的比值。结果得到 BJJtzt-536(N) 的比值范围为 0.79~1.30, BJJtzt-655(N) 的比值范围为 0.80~1.20, 测定数据表明这两个特征肽比较稳定, 受制备工艺参数影响不大, 作为特征肽使用具有较好的耐用性。

2.9 样品测定

取酶解后的龟甲胶对照药材溶液、鳖甲胶对照样品溶液、含 10% 鳖甲胶的龟甲胶参比溶液、龟甲胶供试品溶液, 按“2.3.2”和“2.5”项下的参数测定, 结果见表 5。

所有龟甲胶样品均检出《中国药典》^[1] 收载用于龟甲胶鉴别的特征肽段 [GJJtzt-631(S)], 鳖甲胶对照样品未检出该特征肽段。以该特征肽为指标成分, 以其定量离子对的峰面积作为计算依据, 计算各样品相对于龟甲胶对照药材的比值。结果得到龟甲胶样品相对于龟甲胶对照药材的比值范围为 0.16~1.28。

所测龟甲胶样品中有 1 批检出两个鳖甲胶特

征肽，其定量离子对的峰面积均超过了含 10% 鳖甲胶的龟甲胶参比溶液相应定量离子对的峰面积。以这两个特征肽为指标成分，以其定量离子

对的峰面积作为计算依据，计算该样品相对于鳖甲胶对照样品的比值，结果 BJJtzt-536(N) 和 BJJtzt-655(N) 分别为 0.11、0.10。

表5 样品测定结果
Table 5. Sample determination results

样品编号	龟甲胶鉴别	与龟甲胶对照药材比值	鳖甲胶检查	与鳖甲胶对照样品比值
GLY-G01	+	0.16	—	ND
GLY-G02	+	0.94	—	ND
GLY-G03	+	1.13	—	ND
GLY-G04	+	1.15	—	ND
GLY-G05	+	1.02	—	ND
GLY-G06	+	0.33	—	ND
GLY-G07	+	1.11	—	ND
GLY-G08	+	0.96	—	ND
GLY-G09	+	0.90	+	0.11/0.10
GLY-G10	+	0.85	—	ND
GLY-G11	+	1.28	—	ND
龟甲胶对照药材	+	1.00	—	ND
鳖甲胶对照样品	—	ND	+	1.00/1.00

注：“+”表示阳性；“—”表示阴性；“ND”表示未检出。

3 讨论

胶类中药长久以来一直没有专属性强的鉴别方法，《中国药典（2015 年版）》^[11] 在阿胶的标准中引入了基于液相色谱-串联三重四极杆质谱（liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS）的特征肽检测技术进行鉴别^[1]，自此胶类中药鉴别技术的专属性产生了质的飞跃。由于不同生物的 DNA 存在差异，故由其指导合成的蛋白质的氨基酸序列也必然存在差异，特征肽段即指某一个蛋白质所特有的能够将其与其他蛋白质区分的一段氨基酸序列。特征肽检测技术的专属性接近于直接检测核酸片段的聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）技术，但其方法建立和日常检测的难度及繁琐程度均比 PCR 技术低很多，故其应用范围已十分广泛。除胶类中药外，还可以用于制取胶类中药的动物药原料，以及其他含蛋白质的动物药如水牛角、羚羊角、燕窝等的鉴别或检查。在食品领域也可用于肉类来源的鉴定^[12] 或植物蛋白饮料中植物蛋白来源的鉴定^[13]。

特征肽的寻找一般有两种方法^[4]：一种是对已知胶原蛋白理论序列的，可以将不同动物蛋白质的理论序列进行比对，找出有序列差异的肽段，设定为目标离子，采用 LC-MS 技术进行分析，建立检测方法^[14-15]；另一种方法是对于未知胶原蛋白序列，将不同胶类药材分别采用胰蛋白酶酶

切生成肽段的混合物，采用 LC-MS 进行分析，得到肽图，对肽图采用主成分分析和偏最小二乘法分析等数学统计方法，找出差异性的肽段作为目标离子来建立检测方法^[10, 16-17]。尚未见直接通过比较总离子流图及提取的质谱图来发现特征肽的报道。上述两种方法均需要借助工具软件或工具软件结合数据库才能找出不同蛋白质酶解液之间的肽段差异，相关研究人员需要扎实的蛋白质组学理论知识和相关工具软件及数据库的使用技能，未开展蛋白质组学研究的基层检验机构多数不具备这些条件。本试验使用人工比对肽图及提取的质谱图的方式，成功找到了两个鳖甲胶特征肽，为特征肽的发现开创了一种新的方式。对酶解时间进行了考察，15 h 与 12 h 的酶解效果一致，为便于工作，将酶解时间定为 15 h。

GLY-G01 和 GLY-G06 两个样品的龟甲胶含量异常，但均未检出鳖甲胶，经研究这两批样品掺入了其他杂皮成分，发现过程及采用的方法另行报道。鳖甲胶收载于《卫生部药品标准中药材（第一册）》^[2]，标准中未收载鉴别方法。经专属性、重复性、稳定性及耐用性等方法学验证，新发现的两个鳖甲胶特征肽的专属性强、响应高、峰型好，且比较稳定，受生产工艺的影响也不大，可用于鳖甲胶的鉴别及常用的龟甲胶、鹿角胶、阿胶、新阿胶、黄明胶等胶类中药中掺杂鳖甲胶成分的检查。

参考文献

- 1 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 187–189, 197–198, 402.
- 2 卫生部颁布药品标准(中药材第一册). WS3–B–3719–98[S]. 1998: 103.
- 3 蔡朔, 韩疏影, 夏浩然, 等. 基于特征肽发现与应用的胶类中药质量控制[J]. 中草药, 2022, 53(21): 6888–6899. [Cai S, Han SY, Xia HR, et al. Research progress on quality control of gelatinous traditional Chinese medicine based on discovery and application of specific peptides[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(21): 6888–6899.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2022.21.028](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2022.21.028).
- 4 程显隆, 李明华, 郭晓晗, 等. 胶类药材质量问题变化情况及标准研究对策[J]. 中国现代中药, 2020, 22(7): 996–999. [Cheng XL, Li MH, Guo XH, et al. Change of quality problem of glue crude drugs and strategy of quality standards research[J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(7): 996–999.] DOI: [10.13313/j.issn.1673-4890.20200316010](https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20200316010).
- 5 国家食品药品监督管理总局. 药品检验补充检验方法和检验项目批准件. 龟甲胶中牛皮源、驴皮源成分检查(2014013)[S]. 2014.
- 6 国家药品监督管理局. 龟甲胶中猪皮源成分检查项补充检验方法. BJY201916[S]. 2019.
- 7 杭宝建, 田晨颖, 陈晓, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定阿胶中马、牛、羊、猪、骆驼、鹿皮源成分[J]. 色谱, 2018, 36(4): 408–412. [Hang BJ, Tian CY, Chen X, et al. Determination of the ingredients of horse, ox, sheep, pig, camel and deer skin in colla corii asini by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(4): 408–412.] DOI: [10.3724/SP.J.1123.2017.11002](https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2017.11002).
- 8 赵艳霞, 巩丽萍, 石峰, 等. 基于特征肽测定阿胶食品中的 5 种杂皮源成分[J]. 现代食品科技, 2022, 38(4): 234–240, 281. [Zhao YX, Gong LP, Shi F, et al. Determination of five skin ingredients in asini corii colla foods based on marker peptide[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 234–240, 281.] DOI: [10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0676](https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0676).
- 9 潘志文, 黄婉锋, 钱鑫, 等. 基于超高效液相色谱串联质谱法特征肽检测技术的阿胶鉴别与 6 种动物异源性成分检查[J]. 中国药业, 2024, 33(11): 79–83. [Pan ZW, Huang WF, Qian X, et al. Identification of colla corii asini and examination of six animal heterologous components based on UPLC-MS/MS characteristic peptide detection technology[J]. China Pharmaceuticals, 2024, 33(11): 79–83.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-4931.2024.11.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-4931.2024.11.018).
- 10 程显隆, 李文杰, 张小龙, 等. UPLC-QTOF-MS 结合主成分分析法用于龟甲胶、鹿角胶中添加牛皮源成分的检测研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(6): 931–935. [Cheng XL, Li WJ, Zhang XL, et al. Identification of bovine-hide gelatin from glue of tortoise shell and deer-horn gelatin by UPLC-QTOF-MS and principal component analysis[J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(6): 931–935.] DOI: [10.16155/j.0254-1793.2012.06.004](https://doi.org/10.16155/j.0254-1793.2012.06.004).
- 11 中国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 189–190.
- 12 王忠合, 李晓婷, 胡文梅, 等. 超高效液相色谱-高分辨质谱法测定肉类特征肽[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(18): 258–266. [Wang ZH, Li XT, Hu WM, et al. Determination of peptide markers of meat species by ultra-high pressure liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(18): 258–266.] DOI: [10.13995/j.cnki.11-1802/ts.028030](https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.028030).
- 13 张淑霞, 田亚, 邢荣花, 等. 基于特征肽段的液相色谱质谱联用技术对核桃、杏仁露进行掺假鉴别[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(21): 215–222. [Zhang SX, Tian Y, Xing RH, et al. Identification the adulteration of walnut and almond drink based on marker peptides with liquid chromatography mass spectrometry[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(21): 215–222.] DOI: [10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024604](https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024604).
- 14 石峰, 杭宝建, 迟连利, 等. 驴皮特征肽的发现及其在阿胶鉴别中的应用[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2272–2278. [Shi F, Hang BJ, Chi LL, et al. Discovery of marker peptide of donkey for identification of donkey-hide gelatin[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017, 37(12): 2272–2278.] DOI: [10.16155/j.0254-1793.2017.12.23](https://doi.org/10.16155/j.0254-1793.2017.12.23).
- 15 巩丽萍, 杭宝建, 迟连利, 等. 马皮特征肽的发现及其在阿胶中马皮源成分检测中的应用[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(2): 364–369. [Gong LP, Hang BJ, Chi LL et al. Identification of the horse skin marker peptide for test of horse-hide gelatin in donkey-hide gelatin[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2018, 38(2): 364–369.] DOI: [10.16155/j.0254-1793.2018.02.27](https://doi.org/10.16155/j.0254-1793.2018.02.27).
- 16 程显隆, 陈佳, 李明华, 等. 特征肽段检测技术用于胶类药材专属性鉴别方法研究[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(2): 104–108. [Cheng XL, Chen J, Li MH, et al. Identification study of glue medicines[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2015, 50(2): 104–108.] DOI: [10.11669/cpj.2015.02.003](https://doi.org/10.11669/cpj.2015.02.003).
- 17 苏雪媚, 赖林城, 尹淑华, 等. 基于 UPLC-MS 技术和代谢组学对胶类中药的比较分析[J]. 中国药师, 2021, 24(6): 1025–1029. [Su XM, Lai LC, Yin SH, et al. Comparative analysis of gum traditional Chinese medicine based on UPLC-MS and metabonomics[J]. China Pharmacist, 2021, 24(6): 1025–1029.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-049X.2021.06.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-049X.2021.06.007).

收稿日期: 2024 年 04 月 29 日 修回日期: 2024 年 07 月 08 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳