壮腰健肾丸中辅料炼蜜的掺伪研究

李　玲，肖芳红*，方慧琼，廖宝源，吴应帅，王　翠，焦玉兰，袁　芳，罗　静

（赣州市综合检验检测院，赣州　341000）

摘　要：目的　采用高效液相色谱 – 蒸发光散射检测法（HPLC-ELSD）对 106 批次壮腰健肾丸中蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖进行测定并拟定限度，以此判定炼蜜是否掺入果葡糖浆和转化糖浆。**方法**　采用 Luna®Cmega SUGAR 100Å 4.6 mm×250 mm 色谱柱，以乙腈为流动相 A，以水为流动相 B，进行梯度洗脱；流速为 1 mL/min；漂移管温度 55℃，载气流速：2.0 L/min。**结果**　蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖的方法学考察结果均符合规定。根据《中华人民共和国药典（2020 年版一部）》蜂蜜项下规定，拟定壮腰健肾丸炼蜜中四种成分的限度，106 批样品中有 4 批次超出拟定限度。**结论**　该方法可用于壮腰健肾丸辅料炼蜜的掺伪考察。

关键词：壮腰健肾丸；炼蜜；高效液相色谱法 – 蒸发光散射检测器

0　引　言

壮腰健肾丸由狗脊、鸡血藤、千斤拔、金樱子等九味药组方[1]，经水煎煮提取、浓缩、打粉后加炼蜜制成[2]，具有壮腰健肾，养血，祛风湿的功效[3]。蜂蜜为蜜蜂科昆虫中华蜜蜂(*Apis cerana* Fabricius)或意大利蜂(*Apis mellifera* Linnaeus)所酿的蜜[4]，是蜜丸中重要的辅料[5]，在我国中成药生产中使用广泛[6]。壮腰健肾丸大蜜丸中炼蜜占比为 53%~57%，浓缩水蜜丸中炼蜜占比为 33%~38%，炼蜜质量的优劣直接影响中成药的质量及服用安全性[7]。由于蜂蜜具有较高的营养价值[8]，但产量和资源有限，使得市场上的蜂蜜质量参差不齐，掺假现象更是时有发生。目前市场上的蜂蜜掺入主要物质有：蔗糖、人工转化糖、果葡糖浆等[9]。而蜂蜜主要含果糖和葡萄糖，因此通过对蜂蜜中糖类成分的检测可以区分蔗糖或麦芽糖等的掺假行为[10]。《中华人民共和国药典(2020 年版一部)》“蜂蜜”[11]的含量测定方法为高效液相色谱 – 示差折光检测法(HPLC-RID)，而示差折光检测器平衡时间较长，基线较差，对试剂要求较高。本研究采用的是 HPLC-ELSD 法，具有检测速度快，结果准确等优势，可以满足四种糖类成分含量测定要求。目前我国颁布的食品安全国家标准及药用蜂蜜标准均未对掺伪成分进行控制。本研究针对蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖建立 HPLC-ELSD 测定方法，并制定限度范围，以期进一步控制壮腰健肾丸中炼蜜的质量，为标准提高和用药安全提供参考。

1　材料与方法

1.1　仪器

Waters Acquity Arc 高效液相色谱仪(沃特世公司)，Alltech3300 蒸发光散射检测器(奥泰公司)；梅特勒 – 托利多 XSE205DU 电子天平(梅特勒天平公司)；KQ-5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器公司)；PURELAB Chorus 型超纯水机(ELGA LabWate)。

1.2　对照品与试剂

蔗糖对照品(中国食品药品检定研究院，批号 111507–202105，含量以 99.8% 计)，麦芽糖对照品(中国食品药品检定研究院，批号 100287–202106，含量以 93.7% 计)，麦芽六糖对照品(上海安谱璀世标准技术服务有限公司，批号 2363663，含量以 94.0% 计)，麦芽七糖对照品(上海安谱璀世标准技术服务有限公司，批号 2361726，含量以 98.0% 计)。乙腈为色谱纯，水为超纯水机自制，其余试剂均为分析纯。

1.3　样品

壮腰健肾丸 106 批次，企业 A~P，来源为监督抽验样品。

1.4　实验方法

1.4.1　溶液的配制

对照品溶液的制备：精密称取蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖对照品适量，加 10% 甲醇制成每 1 mL 含蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖各 0.5 mg 的混合对照品溶液。

基金项目：江西省药品监督管理局科研项目（2023JS19）
第一作者：李玲，中药师，检验员，研究方向为中药检验。
* **通信作者：**肖芳红，主管药师，研究方向为药物质量控制。E-mail: gzyjxfh@foxmail.com

供试品溶液的制备：取本品大蜜丸、小蜜丸剪碎，浓缩水蜜丸研细，取约 0.5 g，精密称定，精密加入 10% 甲醇 25 mL，超声处理 30 min，过滤，取续滤液，即得。

1.4.2　色谱条件

采用 Luna®Cmega SUGAR 100Å(4.6 mm×250 mm，3 μm)为色谱柱；以乙腈为流动相 A，以水为流动相 B，按表 1 流动相梯度表进行梯度洗脱；流速为 1 mL/min；柱温 35℃；漂移管温度：55℃，载气流速：2.0 L/min。

表 1　流动相梯度表

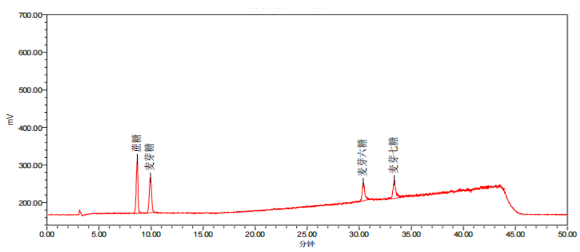
时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~12	74	26
12~40	74→55	26→45

2　结果与分析

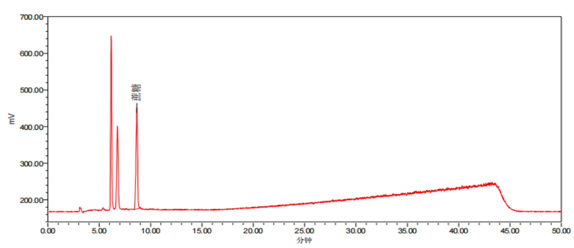
2.1　方法学考察

2.1.1　专属性

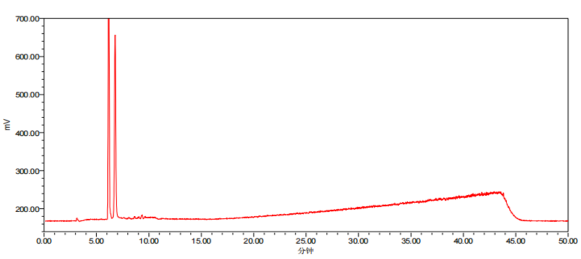
取缺炼蜜的阴性样品，按 1.4.1 项下方法制得阴性样品溶液，按 1.4.2 色谱条件进行测定，结果显示处方中果糖、葡萄糖含量较高，故未将果糖、葡萄糖结果纳入考察范围。阴性样品对蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖出峰无干扰。典型色谱图见图 1。



A



B



C

注：A. 混合对照品溶液；B. 供试品溶液；C. 缺炼蜜的阴性样品溶液

图 1　典型色谱图

2.1.2　线性关系考察及最低检出限

精密吸取混合对照品溶液 1、2、5、10、15、20 μL，注入液相色谱仪，记录测定峰面积积分值，以对照品进样量的自然对数为横坐标，峰面积积分值的自然对数为纵坐标，进行线性回归，得到回归方程，在信噪比(S/N)为 3 时，各成分的检出限如下，详见表 2。从表中可以看到，四种成分在范围内的线性相关系数均大于 0.999，线性关系良好。

表 2　各成分的回归方程、线性范围及最低检出限

成分	回归方程	范围(μg)	相关系数	检出限(μg)
蔗糖	Y=1.1586X+12.7728	0.4222~4.2215	0.9991	0.2111
麦芽糖	Y=1.0592X+12.7285	0.3373~5.0598	0.9993	0.2530
麦芽六糖	Y=0.7158X+11.3594	0.8964~5.9759	0.9995	0.2801
麦芽七糖	Y=1.0162X+12.1988	0.8996~7.4970	0.9996	0.3748

2.1.3　精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 10 μL，连续进样 6 次，测定各成分的峰面积，并计算其对数 RSD 值，结果蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖的 RSD 值分别为 0.4%、0.3%、0.3%、0.3%，表明精密度良好。

2.1.4　重复性试验

取同一批壮腰健肾丸样品六份，研细，取约 0.5 g，精密称定，精密加入 10% 甲醇 25 mL，超声处理 30 min，过滤，取续滤液进样测定，计算含量。结果蔗糖、麦芽糖含量 RSD 分别为 0.74%、0.71%，表明方法重复性良好。

2.1.5　稳定性试验

精密吸取同一壮腰健肾丸供试品溶液 10 μL，分别于 0、2、4、8、12、20、24 h 进样测定，计算含量。结果蔗糖、麦芽糖含量的 RSD 分别为 0.89%、0.62%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.6　准确度试验

取已测定含量的壮腰健肾丸样品六份，研细，取适量，精密称定，置锥形瓶中，再加入适量对照品，精密称定，精密加入 10% 甲醇 25 mL，超声处理 30 min，过滤，取续滤液，进样测定，计算回收率。结果蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖的平均回收率分别为 101.1%、97.1%、92.4%、93.8%，RSD 值分别为 1.0%、1.2%、0.3%、0.7%，表明方法的准确度符合要求。

2.2　样品测定结果

按上述拟定的方法，测定 16 家生产企业 106 批次壮腰健肾丸中 4 种糖类成分的含量，结果见表 3。从表中可以看出，106 批次样品中 46 批次样品检出蔗糖，58 批次样品检出麦芽糖，所有企业的壮腰健肾丸均未检出麦芽六糖和麦芽七糖，有 4 家企业的所有批次壮腰健肾丸样品这四种糖类成分均未检出。

表 3　样品测定结果

序号	企业	批号	蔗糖（mg/g）	麦芽糖（mg/g）	麦芽六糖（mg/g）	麦芽七糖（mg/g）	序号	企业	批号	蔗糖（mg/g）	麦芽糖（mg/g）	麦芽六糖（mg/g）	麦芽七糖（mg/g）
1	A	231105	8.0	13.1	/	/	54	I	08355	1.1	4.2	/	/
2		231103	8.2	13.0	/	/	55		08067	0.8	2.9	/	/
3		240102	/	11.6	/	/	56		08180	2.9	2.6	/	/
4		240106	5.5	13.2	/	/	57		08106	3.5	2.2	/	/
5	B	20231001	/	/	/	/	58		08139	2.2	1.7	/	/
6	C	231202	/	/	/	/	59		08229	/	/	/	/
7		230701	/	/	/	/	60		08340	1.1	2.7	/	/
8		221208	/	/	/	/	61		08354	2.1	2.9	/	/
9		220301	/	/	/	/	62		08008	/	3.7	/	/
10		231107	/	/	/	/	63		08190	1.2	3.9	/	/
11		220503	/	/	/	/	64		08032	1.4	2.6	/	/
12		240201	/	/	/	/	65		08213	1.3	2.8	/	/
13		240204	/	/	/	/	66		08173	1.7	2.7	/	/
14	D	20231203	4.4	/	/	/	67		08221	1.7	2.2	/	/
15		20230201	58.7	/	/	/	68		08023	/	/	/	/
16		20231106	4.0	3.0	/	/	69		08028	/	2.7	/	/
17		20231208	/	/	/	/	70		08053	1.9	2.8	/	/
18		20230801	5.8	/	/	/	71		08373	3.9	2.7	/	/
19		20231203	/	/	/	/	72	J	23A003	4.9	4.0	/	/
20		20231005	4.0	3.1	/	/	73		24A001	5.0	2.8	/	/
21		20230202	70.3	/	/	/	74	K	1022001	/	5.7	/	/
22		20230204	65.6	/	/	/	75		1022002	/	4.6	/	/
23		20230210	78.9	/	/	/	76		1022003	3.9	3.8	/	/
24		20231204	/	/	/	/	77		1023001	4.4	7.2	/	/
25		20230702	3.6	/	/	/	78	L	2310923	4.9	8.6	/	/
26		20230903	4.3	/	/	/	79		2310123	2.9	7.9	/	/
27		20231102	4.7	/	/	/	80		2206823	0.6	6.3	/	/
28		20230602	/	/	/	/	81		2312223	1.7	4.9	/	/
29		20240106	/	/	/	/	82		2401323	2.3	5.6	/	/
30		20231204	/	/	/	/	83		2401023	1.5	5.8	/	/
31	E	20230608	/	/	/	/	84		2401123	2.5	6.8	/	/
32		20231101	/	/	/	/	85		2203323	/	6.2	/	/
33		20230701	/	/	/	/	86		2203311	/	/	/	/
34		20230609	/	/	/	/	87	M	231016	/	5.6	/	/
35		20220403	/	/	/	/	88		220506	/	3.8	/	/
36		20240203	/	/	/	/	89		231022	/	5.4	/	/
37		20230602	/	/	/	/	90		230903	/	/	/	/
38	F	2310078	/	/	/	/	91		231103	/	4.8	/	/
39		2310076	/	/	/	/	92		240304	/	5.8	/	/
40		2307053	/	/	/	/	93		240308	/	3.6	/	/
41		2303012	/	/	/	/	94		231105	/	3.3	/	/
42		2305033	/	/	/	/	95		240103	0.8	3.4	/	/
43		2308065	/	/	/	/	96		231023	/	5.2	/	/
44		2311085	/	/	/	/	97	N	20211201	2.0	3.2	/	/
45		2312097	/	/	/	/	98		20230501	7.1	2.0	/	/
46		2312101	/	/	/	/	99	O	303504	/	2.5	/	/
47		2312093	/	/	/	/	100		203501	/	5.5	/	/
48		2312100	/	/	/	/	101		303507	/	3.78	/	/
49		2311089	/	/	/	/	102		303505	/	4.2	/	/

续表

序号	企业	批号	蔗糖(mg/g)	麦芽糖(mg/g)	麦芽六糖(mg/g)	麦芽七糖(mg/g)	序号	企业	批号	蔗糖(mg/g)	麦芽糖(mg/g)	麦芽六糖(mg/g)	麦芽七糖(mg/g)
50	F	2310081	/	/	/	/	103	O	403504	/	6.3	/	/
51		2311088	/	/	/	/	104		403503	/	5.3	/	/
52	G	230530	2.0	5.1	/	/	105		303500	/	3.3	/	/
53	H	231207	0.4	3.4	/	/	106	P	20230208	3.2	5.9	/	/

3　讨论与结论

3.1　提取方式、提取溶剂和提取时间的选择

本研究考察了超声提取法、加热回流法两种方法对蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖含量测定的影响，结果表明超声提取的含量更高，故选择超声提取法；提取溶剂考察了水、10% 甲醇和甲醇，结果表明，水和 10% 甲醇提取效率接近，但水作为溶剂较难过滤，故选择 10% 甲醇作为提取溶剂；提取时间考察了 15、30、45 min，结果表明 30 min 可提取完全，故提取时间确定为 30 min。

3.2　限度制定

天然蜂蜜中含有 60% 以上的果糖和葡萄糖，5% 以下的蔗糖、麦芽糖以及少量的三糖，不存在五糖以上的低聚糖（又称寡糖）。而糖浆在生产和酶解过程中不可避免存在少量未被彻底酶解的五糖以上的低聚糖，可用于区分天然蜂蜜和糖浆掺假蜂蜜。《中华人民共和国药典（2020 年版一部）》“蜂蜜”标准规定，蔗糖、麦芽糖不得过 5.0%。按照壮腰健肾丸炼蜜最多加入量（大蜜丸、小蜜丸：炼蜜占比为 53%~57%；浓缩水蜜丸：33%~38%）折算，拟定壮腰健肾丸大（小）蜜丸中蔗糖、麦芽糖含量不得多于 30.0 mg/g，浓缩水蜜丸中蔗糖、麦芽糖含量不得多于 20.0 mg/g。因所有样品均未检出麦芽六糖、麦芽七糖，故本研究暂未制定限度。

3.3　炼蜜掺伪情况分析

对结果进行分析发现：4 批次壮腰健肾丸的蔗糖含量超过拟定限度，表明这些样品使用了不合格的蜂蜜进行投料，存在掺伪现象，不合格批次见表 4。麦芽糖、麦芽六糖、麦芽七糖均未检出，排除了麦芽糖浆掺入的可能。106 批次样品中 4 批次不符合拟定限度，不合格率为 3.8%，说明市场上壮腰健肾丸辅料炼蜜掺伪情况总体较好。

本研究采用 HPLC-ELSD 法建立了壮腰健肾丸辅料炼蜜中蔗糖、麦芽糖、麦芽六糖和麦芽七糖的含量测定方法，经过方法学考察，该法简单、灵敏、准确、高效、重复性好。使用该法对 106 批次壮腰健肾丸进行测定，发现大部分企业使用的炼蜜中四种糖类成分均未超限，有 1 家生产企业 4 批次样品蔗糖含量超出限度，检出蔗糖均值为 68 mg/g，为拟定限度的 2 倍，进一步分析发现这 4 批次样品批号接近，推测可能使用了同一批次掺入了蔗糖的蜂蜜。本研究建立的测定壮腰健肾丸辅料中四种糖类成分的分析方法，可为壮腰健肾丸生产企业对蜂蜜入厂检验提供方法参考和为监管部门打击市场蜂蜜掺伪提供一定的技术支持。

表 4　不合格批次汇总

生产企业	剂型	批号	蔗糖(mg/g)	麦芽糖(mg/g)	麦芽六糖(mg/g)	麦芽七糖(mg/g)
D	大蜜丸	20230201	58.7	/	/	/
	大蜜丸	20230202	70.3	/	/	/
	大蜜丸	20230204	65.6	/	/	/
	大蜜丸	20230210	78.9	/	/	/

参考文献

[1] 王秀芹，吕渭升，林彤．壮腰健肾丸质量标准研究[J]．中药新药与临床药理，2016，27(06)：855-859．

[2] 冯李乐，罗晓曼，栾飞，等．天蒲清脑颗粒制剂工艺及质量标准研究[J]．中南药学，2024，22(12)：3259-3263．

[3] 吴琳．壮腰健肾水蜜丸的工艺改进研究[J]．现代医药卫生，2004，(18)：1936-1937．

[4] 彭苑哲，任智先，杨华，等．蜂蜜在古今中药制剂中的应用概况[J]．中成药．2024，46(05)：1565-1569．

[5] 刘学仁，罗新鹏，查敏，等．蜂蜜质量分析的研究进展[J]．中药材，2012，35(07)：1175-1180．

[6] 陆钫，丁晴．消栓再造丸中辅料炼蜜的质量考察[J]．安徽医药，2024，28(03)：486-490．

[7] 刘小鸣，曹文文，王瑞生，等．中药炮制辅料炼蜜制备工艺及质量标准研究[J]．中医学报，2024，39(03)：631-637．

[8] 朱青，王毕妮，梁艳，等．蜂蜜掺假检测方法的研究进展[J]．中国蜂业，2008，59(10)：35-37．

[9] 赵雯，袁铭铭，许妍，等．柏子养心丸中辅料炼蜜的质量研究[J]．药品评价，2020，(13)：37-39，42．

[10] 刘伟，蒋秋桃，龙海燕，等．补中益气丸(颗粒)质量分析[J]．中南药学，2011，9(12)：940-943．

[11] 国家药典委员会．中华人民共和国药典一部[S]．北京：中国医药科技出版社，2020：374-375．