

## 中药配方颗粒辅料麦芽糊精的 HPLC 定量检测与中红外光谱半定量检测

陈建波, 杨乐, 刘芬, 董玲\*

北京中医药大学生命科学院, 北京 102488

**摘要:** 目的 建立中药配方颗粒辅料麦芽糊精的检测方法, 为中药配方颗粒质量评价提供分析技术支持。方法 建立配方颗粒中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的 HPLC 定量检测方法, 根据样品经糖化酶水解后的葡萄糖增加量换算出麦芽糊精含量。基于中药浸膏与麦芽糊精不同比例混合物的中红外光谱 (mid-infrared spectroscopy, MIRS) 特征峰差异, 建立配方颗粒中麦芽糊精的半定量检测方法。结果 所建立的 HPLC 方法可以准确定量检测配方颗粒中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖。如果中药浸膏自身含有较多可经糖化酶水解产生葡萄糖的成分 (淀粉、蔗糖等), HPLC 检测配方颗粒中麦芽糊精时存在系统性正误差, 可通过中药浸膏酶解后葡萄糖增加量、待测样品酶解后蔗糖减小量等部分修正正误差。如果中药浸膏自身少含或不含淀粉、蔗糖等可经糖化酶水解产生葡萄糖的成分, HPLC 检测配方颗粒中麦芽糊精时存在系统性负误差, 换算公式偏差、麦芽糊精纯度、样品处理损失等导致根据样品酶解后葡萄糖增加量计算的麦芽糊精“检测含量”预期低于根据生产投料计算的麦芽糊精“名义含量”。麦芽糊精含量越高, 配方颗粒 MIRS 中 1200~900  $\text{cm}^{-1}$  区域的最强峰位置和整体谱带特征越接近于麦芽糊精, 可以据此直观判断样品中麦芽糊精含量范围。结论 检测中药配方颗粒辅料麦芽糊精时, 灵敏、准确的 HPLC 定量检测可作为参考方法, 简便、绿色的 MIRS 半定量检测可作为快检方法。

**关键词:** 中药配方颗粒; 质量评价; 麦芽糊精; HPLC; 中红外光谱; 辅料; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖; 麦芽糖; 乳糖; 半定量检测

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)20-6629-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.20.008

## HPLC quantitative determination and mid-infrared spectroscopic semi-quantitative determination of maltodextrin in traditional Chinese medicine formula granules

CHEN Jian-bo, YANG Le, LIU Fen, DONG Ling

School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

**Abstract: Objective** To develop the determination methods for the excipient maltodextrin in traditional Chinese medicine formula granule (TCM FG), in order to provide analytical technical supports for the quality assessment of TCM FG. **Methods** A HPLC method was established for the quantitative determination of fructose, glucose, sucrose, maltose and lactose in TCM FG. The content of maltodextrin was calculated based on the increase of glucose after the amyloglucosidase-catalyzed hydrolysis of the sample. Mid-infrared spectroscopy (MIRS) method for the semi-quantitative determination of maltodextrin in TCM FG was developed according to the characteristic peaks of the mixtures of TCM extract and maltodextrin with different mass ratios. **Results** Fructose, glucose, sucrose, maltose and lactose in TCM FG can be determined accurately by the HPLC method. Positive systematic errors for the HPLC determination of maltodextrin in TCM FG can be observed when the TCM extract contains a lot of ingredients (such as starch and sucrose) that can be enzymatically hydrolyzed to generate glucose. These positive errors may be partly corrected according to the increase of glucose after the enzymatic hydrolysis of the pure extract or the decrease of sucrose after the enzymatic hydrolysis of the sample. Negative systematic errors for the HPLC determination of maltodextrin in TCM FG can be observed when the TCM extract contains few ingredients (such as starch and sucrose) that can be enzymatically hydrolyzed to generate glucose. The detected content of maltodextrin calculated from the increase of glucose after the enzymatic hydrolysis of the sample should be lower

收稿日期: 2023-03-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82003943)

作者简介: 陈建波, 副研究员, 主要从事中药分析与质量评价方法研究。E-mail: chenjianbo@bucm.edu.cn

\*通信作者: 董玲, 研究员, 主要从事中药标准化、中药制剂新技术、中药生物药剂学、中药药事管理研究。E-mail: dongling@bucm.edu.cn

than the nominal content of maltodextrin calculated from the production formula of the sample because of the bias of the conversion equation, the purity of maltodextrin, and the mass loss during the sample preparation. As the increase of maltodextrin, the position of the strongest peak and the whole band features in the range of 1200—900  $\text{cm}^{-1}$  of MIRS of TCM FG sample become more similar to maltodextrin, allowing for an intuitive estimation of the maltodextrin content range.. **Conclusion** For the determination of maltodextrin in TCM FG, the sensitive and accurate HPLC quantitative method can be used as the reference method, while the simple and green MIRS semi-quantitative method can be used for the rapid analysis.

**Key words:** traditional Chinese medicine formula granule; quality assessment; maltodextrin; HPLC; mid-infrared spectroscopy; excipient; fructose; glucose; sucrose; maltose; lactose; semi-quantitative determination

国家药品监督管理局于 2021 年 1 月发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》<sup>[1]</sup>明确指出“中药配方颗粒是由单味中药饮片经水加热提取、分离、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒……根据各品种的性质，可使用颗粒成型必要的辅料，辅料用量以最少化为原则。除另有规定外，辅料与中间体（浸膏或干膏粉，以干燥品计）之比一般不超过 1:1。”在配方颗粒中添加辅料，既便于浸膏干燥与颗粒成型，也便于固定配方颗粒与饮片的剂量折算关系。但是，辅料种类不当或含量过高可能影响配方颗粒的安全性和有效性。目前已颁布的中药配方颗粒国家和省级药品标准尚未具体规定辅料定性或定量检测要求。

麦芽糊精是中药配方颗粒普遍添加的辅料，有些品种或厂家的配方颗粒中麦芽糊精占比甚至超过一半<sup>[2-3]</sup>。大量添加麦芽糊精不仅增加患者服药剂量，也可能会影响药效物质的溶出过程和生物利用度<sup>[4-5]</sup>。另外，某些配方颗粒生产企业可能试图大量添加麦芽糊精以掩盖自身产品出膏率低的问题。因此，建立麦芽糊精的定量检测方法对于进一步完善中药配方颗粒质量标准是很有必要的。

麦芽糊精是以淀粉或淀粉质为原料，经酶法低度水解制得的糖类聚合物<sup>[6]</sup>，可看作相对分子质量分布范围宽、各组分比例不固定的葡聚糖混合物。借鉴淀粉检测的国内外标准<sup>[7-8]</sup>，可通过酶解或酸解处理将麦芽糊精转化为葡萄糖，测定葡萄糖后换算为麦芽糊精。这种间接测定方法的问题是样品中的葡萄糖或者其他可水解产生葡萄糖的成分会对麦芽糊精测定结果产生阳性干扰。测定食品中淀粉时，可以用一定浓度乙醇洗去样品中可溶性糖类<sup>[7-8]</sup>，再水解残留样品。但是，麦芽糊精相对分子质量低于淀粉、溶解性高于淀粉，本研究发现 90%乙醇也会明显溶解麦芽糊精，导致含量测定结果偏低。因此，本研究尝试用 HPLC 分别测定配方颗粒样品水解前后的葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖，根据水

解后这几种糖类成分的含量变化计算麦芽糊精含量。这样既可以降低浸膏自身成分的干扰，又可以避免醇洗处理造成的误差。

相比于将麦芽糊精转化为葡萄糖的间接测定方法，红外光谱 [包括中红外光谱 (mid-infrared spectroscopy, MIRS) 和近红外光谱 (near-infrared spectroscopy, NIRS)] 可以直接检测配方颗粒中麦芽糊精，不需要分离提取、水解转化等处理，具有简便、快速、绿色、低廉等优势<sup>[9-11]</sup>。红外光谱定量检测配方颗粒中麦芽糊精时，需要预先建立对应的多元校正模型<sup>[12-18]</sup>。模型建立需要大量不同批次样品，一个模型只能用于一种配方颗粒，而且模型在不同工艺产品、不同型号光谱仪器之间的通用性较差。这导致配方颗粒红外光谱校正模型的建立难度较高，而且不适用于临床需求较低、生产企业或批次较少的品种。事实上，同一品种配方颗粒中麦芽糊精含量增加时，MIRS 上可能直观看到糖类成分特征峰的规律性变化<sup>[2,19]</sup>，不使用校正模型也能判断样品中麦芽糊精含量范围或者不同样品中麦芽糊精相对多少。这种半定量检测方法的灵敏度、准确性低于使用光谱校正模型的定量检测方法，但是在经济性、可行性、适用性等方面更具优势，可用于检测灵敏度和准确性要求不高的场景，例如企业内控、快速筛查、现场检测等。

本研究以金银花配方颗粒为例，优化样品处理与测试条件，初步建立了麦芽糊精的 HPLC 定量检测与 MIRS 半定量检测方法，进而使用当归、黄芪、党参等提取物与配方颗粒考察了上述方法的可行性，可以为具体品种配方颗粒中麦芽糊精的检测方法研究和质量标准制订提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与设备

配有 ELSD-LT II 型低温蒸发光散射检测器、A-10 型全自动空气源的 LC-20AD 型高效液相色谱仪，日本 Shimadzu 公司；Reprosil Carbohydrate (250

mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 德国 Dr. Maisch 公司; 配有 Platinum ATR 衰减全反射附件的 Vertex 70 型傅立叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; Milli-Q® Integral 5 型纯水系统, 德国 Merck Millipore 公司; BT25S 型电子分析天平, 德国 Sartorius 公司; BJ800A 型多功能粉碎机, 德清拜杰电器有限公司; KH7200DB 型数控超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司。

### 1.2 化学试剂

对照品果糖, 质量分数 99.0%, 批号 C11634880, 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 对照品葡萄糖 (质量分数 99.5%, 批号 G2031161)、蔗糖 (质量分数 99.5%, 批号 K2010340)、麦芽糖一水合物 (质量分数 98.0%, 批号 J1916214)、α-乳糖一水合物 (质量分数 98.0%, 批号 B2010080), 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 对照品麦芽糊精 A, 葡萄糖当量 (dextrose equivalent, DE) 值 ≤18, 批号 20201102, 购自山东西王糖业有限公司; 对照品麦芽糊精 B, DE 值 ≤20, 批号 20201016, 购自孟州市金玉米有限责任公司; 对照品麦芽糊精 C, DE 值 ≤6, 批号 20200806, 购自罗盖特 (中国) 营养食品有限公司; 糖化酶 A, 批号 12020011, 酶活 1×10<sup>5</sup> U/g, 购自北京索莱宝科技有限公司; 糖化酶 B, 批号 018950, 酶活 1×10<sup>5</sup> U/g, 购自北京迈瑞达科技有限公司; 糖化酶 C, 批号 r419752, 酶活 1×10<sup>5</sup>

U/g, 购自北京百诺威生物科技有限公司; 乙腈, HPLC 级, 购自赛默飞世尔科技公司; 无水乙醇、盐酸, AR 级, 购自天津市致远化学试剂有限公司。

### 1.3 中药提取物与配方颗粒

**1.3.1 样品** 表 1 所示为北京康仁堂药业有限公司 (厂家 A)、华润三九医药股份有限公司 (厂家 B)、甘肃佛慈红日药业有限公司 (厂家 C)、天士力医药集团股份有限公司 (厂家 D) 提供的中药提取物 (E1~E8、F1~F12) 与配方颗粒 (JYH1~JYH3、DG1~DG5、HQ1~HQ6、DS1~DS11) 的样品信息。上述配方颗粒中麦芽糊精的“名义含量”由生产厂家按照投料比例计算。HPLC 与 MIRS 方法学建立使用的不含辅料的 3 批次金银花浸膏由厂家 A 提供。

**1.3.2 药材** 金银花、当归、黄芪、党参 4 种饮片均购自北京上医仁家中医诊所有限公司, 经中国中药协会首席科学家张世臣教授鉴定, 分别为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾、伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、桔梗科党参属植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根。

**1.3.3 自制单味饮片提取物** 称定单味饮片 100 g, 加水浸泡 30 min, 水煎提取 2 次 (头煎 30 min, 二

表 1 企业提供的中药提取物与配方颗粒样品信息

Table 1 Information about traditional Chinese medicine extracts and formula granules provided by producers

品种	批号	编号	厂家	品种	批号	编号	厂家	品种	批号	编号	厂家
乌梅	J180606	E1	A	蒲公英	20032861	F8	A	黄芪	20150901	HQ3	D
葶苈子	P190603	E2	A	蒲黄炭	20038482	F9	A	黄芪	20150903	HQ4	D
刺五加	P180915	E3	A	拳参	20030662	F10	A	黄芪	20200401	HQ5	D
山豆根	P190521	E4	A	土鳖虫	21005582	F11	A	黄芪	19060012	HQ6	C
苦地丁	P190514	E5	A	制乳香	21005511	F12	A	党参	20210401	DS1	D
槲寄生	P190226	E6	A	金银花	19080021	JYH1	C	党参	20170801	DS2	D
当归	YP170122	E7	A	金银花	21000681	JYH2	A	党参	20170802	DS3	D
益母草	YP180209	E8	A	金银花	20170915	JYH3	D	党参	20170803	DS4	D
白芍	20043221	F1	A	当归	20170101	DG1	D	党参	20210501	DS5	D
炒神曲	21000112	F2	A	当归	20170102	DG2	D	党参	2110001W	DS6	B
赤芍	20042381	F3	A	当归	20201001	DG3	D	党参	2103001w	DS7	B
淡豆豉	21005562	F4	A	当归	21018321	DG4	A	党参	19060012	DS8	C
党参	21000341	F5	A	当归	2104002C	DG5	B	党参	21024421	DS9	A
桔梗	20031291	F6	A	黄芪	20200901	HQ1	D	党参	20210601	DS10	D
苦参	20023222	F7	A	黄芪	20150902	HQ2	D	党参	21000341	DS11	A

煎 20 min), 2 次煎液均以双层纱布滤过, 滤液合并后旋蒸浓缩至 500 mL。金银花头煎加入 12 倍水、二煎加入 10 倍水, 当归、黄芪、党参头煎加入 7 倍水、二煎加入 6 倍水。浓缩液直接冷冻干燥制备纯浸膏, 或者在浓缩液中加入麦芽糊精后冷冻干燥制备设定辅料含量的提取物。

## 2 方法与结果

### 2.1 5 种单糖和双糖的 HPLC 定量检测方法

**2.1.1 色谱条件** LC-20AD 型高效液相色谱仪, 色谱柱为 Reprosil Carbohydrate 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (77:23); 体积流量 1.4 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL; 蒸发光散射检测器漂移管温度 40 °C; 雾化气压力 350 kPa; 雾化气流量 2.8 L/min; 理论塔板数按葡萄糖峰计不低于 5000。

**2.1.2 对照品溶液的制备与测试** 精密称取分析纯果糖 200.0 mg、葡萄糖 200.0 mg、蔗糖 200.0 mg、麦芽糖一水合物 50.0 mg、α-乳糖一水合物 50.0 mg, 70%乙醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中, 得到混合对照品储备液, 存储于 4 °C 冰箱; 分别精密吸取上述混合对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 用 70%乙醇定容至刻度, 得到系列标准工作液, 存储于 4 °C 冰箱; 分别精密吸取各质量浓度标准工作液 10 μL, 注入 HPLC 仪器, 测定峰面积, 以峰面积对数为纵坐标 (Y)、以糖类成分质量浓度 (按照纯度折算并扣除结晶水) 对数为横坐标 (X) 绘制标准曲线。

**2.1.3 供试品溶液制备与测试** 取样品粉末 1 g, 精密称定, 加水 40 mL, 充分搅拌, 超声 (250 W、20 min), 8000 r/min 离心 (离心半径 9.5 cm) 5 min, 将上清液转移至 50 mL 量瓶中, 加水定容; 精密移取上述溶液 5 mL, 缓慢加入无水乙醇至乙醇体积分数为 70%, 4 °C 冰箱中静置 4 h, 8000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 25 mL 量瓶中, 剩余残渣用 70%乙醇洗涤 2 次, 洗涤液合并于上述量瓶中, 加 70%乙醇定容, 摇匀, 存储于 4 °C 冰箱; HPLC 测试前用 0.45 μm 滤膜滤过, 滤液可适当稀释。精密吸取供试品溶液 10 μL, 注入 HPLC 仪器, 测定峰面积, 根据标准曲线计算糖类成分质量浓度。

#### 2.1.4 5 种单糖和双糖的 HPLC 定量检测方法评价

(1) 专属性考察: 如图 1 所示, 5 种单糖和双糖的色谱峰形状与分离度良好, 15 min 左右的保留时间内可以完成 5 种糖的检测。本研究也考察了若

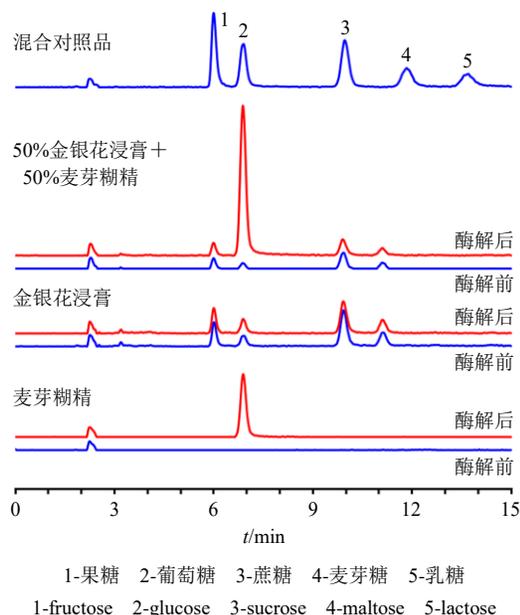


图 1 金银花浸膏与麦芽糊精酶解前后的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC curves of *Lonicerae Japonicae Flos* extract and maltodextrin before and after enzymolysis

干其他品牌或型号色谱柱的分离效果, 发现不同色谱柱最适宜的流动相组成 (乙腈与水比例) 和体积流量略有不同, 可根据具体情况适当优化。

(2) 线性方程和范围: 以峰面积 (Y) 的常用对数为纵坐标, 以成分质量浓度 (X) 的常用对数为横坐标, 绘制标准曲线 (表 2), 5 种糖的线性范围内相关系数较高 ( $R^2$  均 > 0.999)。

(3) 精密度试验: 将不含辅料的金银花浸膏、果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖一水合物、α-乳糖一水合物按照 65:5:5:5:10:10 的质量比例混匀后作为模拟样品, 制备供试品溶液并连续进样 6 次, 各糖色谱峰面积 RSD 值均小于 2% (表 2), 说明方法精密度良好。

(4) 稳定性试验: 取上述模拟样品制备的供试品溶液, 分别在第 0、2、4、8、12 小时进样, 测定色谱峰面积, 每种糖的色谱峰面积 RSD 值均小于 2% (表 2), 说明方法稳定性良好。

(5) 重现性试验: 将不含辅料的金银花浸膏、果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖一水合物、α-乳糖一水合物按照 65:5:5:5:10:10 的质量比例混匀后作为模拟样品, 平行制备 6 份, 分别进行提取和测定, 每种糖的色谱峰面积 RSD 值均小于 3% (表 2), 说明方法重现性良好。

(6) 加样回收率试验: 取上述模拟样品 1 份, 分别加入约为原含量 0.7、1.0、1.3 倍的果糖、葡萄

表 2 5种单糖和双糖的 HPLC 方法学评价

Table 2 Evaluations on HPLC method for five monosaccharides and disaccharides

化合物	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/ (mg·L <sup>-1</sup> )	RSD/%			加样回收率/%	
				精密度	稳定性	重现性	平均值	RSD
果糖	lgY=1.014 9 lgX+3.551 3	0.999 7	19.805~1 980.500	1.52	0.94	2.67	101.88	0.80
葡萄糖	lgY=1.092 3 lgX+3.300 1	0.999 1	19.906~1 990.600	1.92	1.08	1.77	102.56	1.97
蔗糖	lgY=1.128 9 lgX+3.234 5	0.999 0	19.906~1 990.600	1.94	1.15	0.99	101.14	1.28
麦芽糖	lgY=1.071 9 lgX+3.319 5	0.999 1	46.615~466.150	1.40	1.43	2.81	98.69	1.47
乳糖	lgY=1.020 4 lgX+3.396 2	0.999 1	46.597~465.970	1.79	1.45	2.51	98.30	2.16

糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖，测得 5 种单糖和双糖的加样回收率均在 95%~105% (表 2)，说明方法准确性良好。

## 2.2 麦芽糊精的 HPLC 定量检测方法

### 2.2.1 麦芽糊精的 HPLC 定量检测原理

麦芽糊精主要组分是葡萄糖的链状聚合物，含有  $n$  个葡萄糖单元的一个链状葡聚糖分子与其完全水解产生的葡萄糖的质量比如式 (1) 所示。

$$m_{\text{葡聚糖}}/m_{\text{葡萄糖}} = [n \cdot M_{\text{葡萄糖}} - (n-1) \cdot M_{\text{水}}] / (n \cdot M_{\text{葡萄糖}}) = 1 - M_{\text{水}}/M_{\text{葡萄糖}} + \frac{1}{n} \cdot M_{\text{水}}/M_{\text{葡萄糖}} \quad (1)$$

$m$  为质量， $M$  为相对分子质量， $n$  为葡聚糖分子中的葡萄糖单元数量

水的相对分子质量为 18.015，葡萄糖的相对分子质量为 180.16，二者比值约为 0.1。 $n$  较大时，式 (1) 等号右侧最后 1 项可忽略，所以 1 个葡聚糖分子与其完全水解产生的葡萄糖的质量比约为 0.9。因此，根据样品酶解后的葡萄糖增加量，配方颗粒中麦芽糊精质量分数 ( $w$ ) 可按式 (2) 计算。

$$w_{\text{麦芽糊精}} = 0.9 \times (m_{\text{样品酶解后葡萄糖}} - m_{\text{样品酶解前葡萄糖}}) / m_{\text{样品}} = 0.9 \times m_{\text{样品酶解后葡萄糖增加量}} / m_{\text{样品}} \quad (2)$$

$m$  为质量， $w$  为质量分数

为了监测配方颗粒中浸膏成分或其他辅料对麦芽糊精测定结果的干扰，本研究建立的 HPLC 方法同步检测葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖等 5 种单糖和双糖。果糖是植物药常见成分，某些条件下可以转换为葡萄糖，其色谱峰也容易与葡萄糖重叠。蔗糖、麦芽糖、乳糖是最常见的可水解产生葡萄糖的双糖，而且乳糖作为配方颗粒常用辅料也有必要进行检测。

### 2.2.2 麦芽糊精的 HPLC 定量检测步骤

(1) 色谱条件与系统适用性试验、对照品溶液与酶解前供试品溶液的制备与测试方法：同“2.1”项。样品酶解处理方法参考淀粉检测的国内外相关

标准<sup>[7-8]</sup>。

(2) 糖化酶溶液的制备：精密称取 10<sup>5</sup> U/g 糖化酶粉末 1 g (精确至 0.1 mg)，加水 10 mL，涡旋混匀，8000 r/min 离心 10 min，将上清液转移至 10 mL 量瓶中，加水定容，得到 10<sup>4</sup> U/mL 的糖化酶溶液。

(3) 酶解后供试品溶液制备与测试：精密称量样品粉末 1 g (精确至 0.1 mg)，加水 40 mL，充分搅拌，超声 (250 W、20 min)，8000 r/min 离心 5 min，上清液用 0.1 mol/L 盐酸调节 pH 值至 4.5，加入 1×10<sup>4</sup> U/mL 糖化酶溶液 2.5 mL，混匀，60 °C 水浴、磁力搅拌下反应 30 min，反应液冷却至室温后全部转移至 50 mL 量瓶中，加水定容；精密移取上述溶液 5 mL，缓慢加入无水乙醇至乙醇体积分数为 70%，4 °C 冰箱中静置 4 h，8000 r/min 离心 5 min，将上清液转移至 25 mL 量瓶中，剩余残渣用 70%乙醇洗涤 2 次，洗涤液合并于上述量瓶中，加 70%乙醇定容，摇匀，存储于 4 °C 冰箱；HPLC 测试前用 0.45 μm 滤膜滤过，滤液可适当稀释。

(4) 麦芽糊精含量计算：根据酶解前、酶解后供试品溶液的葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖测定结果，按照式 (2) 计算样品中麦芽糊精含量。

### 2.2.3 麦芽糊精的 HPLC 定量检测方法评价

(1) 专属性考察：如图 1 所示，未加辅料的金银花浸膏自身含有果糖、葡萄糖、蔗糖等，酶解后的蔗糖峰略有降低。添加麦芽糊精的金银花浸膏酶解后葡萄糖含量明显增加，主要是因为麦芽糊精的酶解。也就是说，样品酶解前后的葡萄糖含量变化确实能够反映样品中麦芽糊精含量。

(2) 精密度的试验：将不含辅料的金银花浸膏与麦芽糊精等质量混匀，平行制备 6 份，分别按照“2.2.2”项下方法进行酶解和测定，样品酶解后果糖、葡萄糖、蔗糖色谱峰面积 RSD 分别为 1.75%、1.39%、2.42%，说明酶解方法精密度的良好。

(3) 稳定性试验: 取上述模拟样品制备的同一供试品溶液, 分别在第 0、2、4、8、12 小时进样, 测定色谱峰面积, 果糖、葡萄糖、蔗糖色谱峰面积 RSD 值分别为 1.81%、1.19%、2.01%, 说明方法稳定性良好。

(4) 加样回收率试验: 将不含辅料的金银花浸膏分别与麦芽糊精混匀, 制备麦芽糊精含量为 10%、50%、80% 的 3 份样品, 按照“2.2.2”项下方法测定麦芽糊精回收率(扣除麦芽糊精自身水分和灰分影响)分别为 101%、92%、93%, 说明麦芽糊精含量较高时酶解方法的误差有所增加, 可能因为酶解后的醇沉处理造成了较多的葡萄糖损失。

(5) 耐用性试验: 本研究将 3 批次不含辅料的金银花浸膏分别与不同 DE 值的 3 种品牌麦芽糊精混匀, 制备麦芽糊精含量均为 10% 的 3 份样品, 按照“2.2.2”项下方法测定麦芽糊精回收率(扣除麦芽糊精自身水分和灰分影响)为 99%~102%; 使用 3 种品牌糖化酶水解不同 DE 值的 3 种品牌麦芽糊精, 测得麦芽糊精回收率均在 95%~97%。上述结

果说明方法耐用性良好, 不依赖于特定品牌或型号的糖化酶或者麦芽糊精。

(6) 品种适用性: 本研究测定了 20 种中药提取物和配方颗粒(19 种植物药、1 种动物药)的 5 种单糖和双糖、麦芽糊精的加样回收率。所有样品在生产过程中已经添加不同比例的麦芽糊精。为了同时测定多种成分加样回收率, 各品种提取物、果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖一水合物、 $\alpha$ -乳糖一水合物、麦芽糊精均按照 65:5:5:5:5:5:10 的质量比例混匀, 然后分别测定提取物、混合物中的 5 种单糖和双糖、麦芽糊精的含量。如表 3 所示, 除了个别品种提取物中个别糖类成分的加样回收率较低(乌梅中麦芽糖为 77%, 葶苈子中麦芽糖为 85%, 苦参中葡萄糖为 86%, 山豆根中蔗糖、蒲公英中麦芽糊精均为 89%)或较高(当归中葡萄糖为 111%), 绝大部分提取物中 5 种单糖和双糖、麦芽糊精的加样回收率在 90%~110%, 初步证明本研究提出的 5 种单糖和双糖、麦芽糊精的 HPLC 定量检测方法适用于不同品种提取物。

表 3 不同品种中药提取物与配方颗粒的糖类成分加样回收率 (n = 3)

Table 3 Recovery ratios of carbohydrates in different kinds of traditional Chinese medicine extracts and formula granules (n = 3)

品种	编号	加样回收率/%						RSD/%					
		果糖	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	麦芽糊精	果糖	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	麦芽糊精
乌梅	E1	105	103	92	77	98	98	2.27	1.35	2.93	3.15	1.76	3.39
葶苈子	E2	103	108	95	85	103	106	1.18	1.45	2.82	2.53	2.31	2.52
刺五加	E3	106	105	93	103	93	108	1.65	2.52	1.89	2.59	1.26	3.06
山豆根	E4	95	95	89	102	104	109	1.93	1.97	1.21	2.01	2.07	2.29
苦地丁	E5	101	105	93	100	94	95	1.35	1.95	3.01	2.23	2.51	2.64
槲寄生	E6	93	97	99	97	99	106	1.68	3.00	1.13	3.07	2.85	3.33
当归	E7	98	111	98	98	97	91	2.46	2.95	1.12	2.90	2.44	3.04
益母草	E8	101	103	106	98	99	98	2.33	2.37	1.38	2.91	2.51	2.95
白芍	F1	95	101	93	98	96	101	2.38	3.17	1.84	1.59	2.56	3.47
炒神曲	F2	92	103	91	100	99	103	3.02	2.72	2.19	2.12	1.41	2.51
赤芍	F3	96	97	96	96	100	104	1.33	1.63	2.35	1.92	1.38	2.46
淡豆豉	F4	92	101	91	107	95	103	1.37	1.33	3.02	2.16	2.06	2.64
党参	F5	93	104	96	107	100	94	2.45	2.03	1.22	1.79	2.11	2.10
桔梗	F6	94	101	93	101	97	96	2.15	2.83	1.66	1.14	1.92	2.97
苦参	F7	98	86	96	96	107	98	2.78	2.30	1.29	1.29	2.90	2.43
蒲公英	F8	97	107	94	101	106	89	2.90	1.48	2.49	2.45	2.07	2.21
蒲黄炭	F9	93	107	93	100	102	96	1.53	3.08	1.83	3.27	1.02	2.04
拳参	F10	95	102	92	100	101	96	1.51	3.06	1.79	2.32	2.97	3.41
土鳖虫	F11	90	101	92	105	98	99	2.90	1.13	2.21	1.96	1.95	2.06
制乳香	F12	92	110	91	95	95	96	1.39	3.06	2.02	3.38	2.28	3.10

2.2.4 系统性正误差来源分析与修正方法考察

如果中药配方颗粒的浸膏成分或者其他辅料也能经糖化酶水解产生葡萄糖，按照式(2)计算的麦芽糊精“检测含量”会存在系统性正误差。本研究发现糖化酶处理不会明显影响果糖、乳糖，会彻底水解麦芽糖、可溶性淀粉，也会在一定程度上水解蔗糖(具体水解比例因样品而异)。根据后续不同品种中药提取物的测量结果，蔗糖、葡聚糖(例如可溶性淀粉)是导致麦芽糊精“检测含量”存在正误差的主要因素。假设麦芽糊精以外的其他辅料忽略不计，配方颗粒样品酶解后的葡萄糖增加量一部分来自麦芽糊精水解，一部分来自浸膏成分水解，可以表示为式(3)，进而推导出式(4)。

$$m_{\text{样品酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{样品}} = \frac{10}{9} \times w'_{\text{麦芽糊精}} + (1 - w'_{\text{麦芽糊精}}) \times m_{\text{纯浸膏酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{纯浸膏}} \quad (3)$$

$$w'_{\text{麦芽糊精}} = (m_{\text{样品酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{样品}} - m_{\text{纯浸膏酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{纯浸膏}}) / (\frac{10}{9} - m_{\text{纯浸膏酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{纯浸膏}}) \quad (4)$$

$m$ 为质量， $w'$ 为质量分数

假设配方颗粒样品酶解后减少的麦芽糖、蔗糖、乳糖均水解为葡萄糖和其他相应单糖，在计算麦芽糊精含量时应扣除来自麦芽糖、蔗糖、乳糖水解的葡萄糖，如式(5)所示。

$$w''_{\text{麦芽糊精}} = \frac{9}{10} \times m_{\text{样品酶解后葡萄糖增加量}}/m_{\text{样品}} - \frac{9}{19} \times m_{\text{样品酶解后蔗糖减少量}}/m_{\text{样品}} \quad (5)$$

$$m_{\text{样品}} - \frac{18}{19} \times m_{\text{样品酶解后麦芽糖减少量}}/m_{\text{样品}} - \frac{9}{19} \times m_{\text{样品酶解后乳糖减少量}}/m_{\text{样品}} \quad (5)$$

$m$ 为质量， $w''$ 为质量分数

如果能够知道对应的纯浸膏酶解后葡萄糖增加量，根据式(4)可以计算浸膏修正后的麦芽糊精含量，降低蔗糖、葡聚糖等浸膏成分酶解产生葡萄糖而导致的麦芽糊精检测含量的正误差。基于样品酶解前后的 HPLC 测量结果，根据式(5)可以计算二糖修正后的麦芽糊精含量，降低蔗糖、麦芽糖、乳糖等浸膏或辅料成分酶解产生葡萄糖而导致的麦芽糊精检测含量的正误差。

本研究使用代表性品种的自制中药浸膏与麦芽糊精不同比例混合物(麦芽糊精含量分别为10%、30%、50%)，对麦芽糊精 HPLC 定量检测方法的系统性正误差和修正方法进行了考察。表4所示为上述浸膏和混合物样品酶解前后的果糖、葡萄糖、蔗糖含量(所有样品中麦芽糖与乳糖均低于检测限)，以及根据投料比例计算的麦芽糊精名义含量、式(2)计算的麦芽糊精检测含量、式(4)计算的浸膏修正的麦芽糊精检测含量、式(5)计算的二糖修正的麦芽糊精检测含量。

如表4所示，金银花浸膏的蔗糖含量为17.5%，酶解后蔗糖含量为9.1%。假设酶解损失的蔗糖全部

表4 实验室制备中药提取物的麦芽糊精测定结果

Table 4 Determination of maltodextrin in lab-prepared traditional Chinese medicine extracts

样品	麦芽糊精/%				酶解前质量分数/%			酶解后质量分数/%		
	名义含量	检测含量	浸膏修正	二糖修正	果糖	葡萄糖	蔗糖	果糖	葡萄糖	蔗糖
金银花浸膏	0.0	4.3	0.0	0.3	4.2	3.0	17.5	9.0	7.7	9.1
	10.1	13.2	9.3	9.9	3.7	2.7	15.6	7.9	17.4	8.6
	30.2	29.9	26.8	27.1	3.1	2.5	12.5	6.5	35.7	6.6
	50.6	46.0	43.6	43.9	2.3	2.0	8.9	4.8	53.1	4.6
当归浸膏	0.0	15.0	0.0	0.0	3.4	2.5	59.4	19.6	19.2	27.2
	9.9	23.8	10.4	9.8	3.2	2.4	53.5	18.9	28.8	23.9
	29.3	36.7	25.6	25.5	2.4	2.1	40.4	14.5	42.9	16.8
	50.1	51.3	42.7	43.0	1.8	2.0	29.3	10.5	59.0	11.8
黄芪浸膏	0.0	9.8	0.0	4.4	3.5	0.6	47.2	10.8	11.4	35.7
	10.0	17.8	8.9	12.5	3.2	0.6	42.9	9.9	20.4	31.6
	30.6	33.2	25.9	28.7	2.6	0.6	33.7	7.7	37.5	24.2
	50.5	47.8	42.2	44.5	1.7	0.8	24.1	5.3	54.0	17.1
党参浸膏	0.0	2.0	0.0	1.3	34.1	7.8	4.2	45.5	10.0	2.8
	9.7	10.8	9.0	10.2	32.0	7.2	3.4	41.9	19.2	2.1
	29.7	26.8	25.3	26.2	24.9	6.0	3.3	32.4	35.8	1.9
	50.6	46.4	45.3	46.1	17.6	4.4	2.1	23.4	55.9	1.7

水解为等量果糖与葡萄糖，二者含量理论增加值均为 4.4%（果糖实测增加值为 4.8%，葡萄糖实测增加值为 4.7%，均接近理论增加值）。如果麦芽糊精与金银花浸膏等量混合，样品中蔗糖酶解产生葡萄糖的理论值仅为 2.2%，远少于麦芽糊精酶解产生葡萄糖，前者对后者干扰不明显，式（2）计算的麦芽糊精检测含量接近“名义含量”。混合物中麦芽糊精含量为 10%时，蔗糖酶解产生葡萄糖不再远少于麦芽糊精酶解产生葡萄糖，前者对后者干扰较为明显，式（2）计算的麦芽糊精检测含量高于名义含量，而二糖修正可以明显改善误差。

如表 4 所示，当归浸膏中蔗糖含量较高（接近 60%），所以蔗糖酶解导致的葡萄糖增加量较大（超过 15%），式（2）计算的麦芽糊精检测含量明显偏离名义含量，而且麦芽糊精含量越低时的正误差越大。当归浸膏基本不含淀粉，样品酶解后浸膏成分导致的葡萄糖增加量主要来自蔗糖，所以二糖修正与浸膏修正的结果相似，均能明显改善麦芽糊精检测含量的正误差。

与当归浸膏相似，黄芪浸膏中蔗糖含量也较高（接近 50%），所以蔗糖酶解导致的葡萄糖增加量较大（超过 10%），式（2）计算的麦芽糊精检测含量明显偏离名义含量，而且麦芽糊精含量越低时正误差越大。与当归不同，黄芪样品中麦芽糊精检测含量的二糖修正结果明显高于浸膏修正结果，说明黄芪浸膏中除了蔗糖还有其他能够酶解产生葡萄糖的成分，推测是可溶性淀粉。

如表 4 所示，党参浸膏中蔗糖含量较低（不到 5%），而果糖含量较高（超过 30%）。样品酶解后果糖含量明显增加，说明党参浸膏的果聚糖会在一定程度上被糖化酶水解。由于蔗糖酶解产生的葡萄糖增加量较小（约 2%），果聚糖酶解不会产生大量葡萄糖，所以党参样品麦芽糊精检测含量的正误差较小，二糖修正与浸膏修正的误差改善效果均不明显。

综上所述，中药浸膏如果含有较多蔗糖、葡聚糖（例如可溶性淀粉），对应品种配方颗粒中麦芽糊精含量的 HPLC 检测结果存在较大的正误差。浸膏修正（式 4）与二糖修正（式 5）均可有效降低蔗糖导致的正误差，但是降低葡聚糖导致的正误差只能通过浸膏修正（式 4）。实际操作中，纯浸膏酶解后的葡萄糖增加量数据很难获取，所以浸膏含有大量葡聚糖的中药配方颗粒品种的麦芽糊精 HPLC 定量检测结果很可能存在较大的正误差。

## 2.3 麦芽糊精的 MIRS 半定量检测方法

**2.3.1 麦芽糊精的 MIRS 半定量检测原理** 《中国药典》通则《0402 红外分光光度法》规定“红外分光光度法是在  $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$  测定物质的吸收光谱”<sup>[20]</sup>，说明此处的红外分光光度法即为 MIRS。该通则还指出“除部分光学异构体及长链烷烃同系物外，几乎没有 2 个化合物具有相同的红外光谱，据此可以对化合物进行定性和结构分析；化合物对红外辐射的吸收程度与其浓度的关系符合朗伯-比尔定律，是红外分光光度法定量分析的依据。”由此可知，不同品种中药浸膏的化学成分有所差异，其 MIRS 具有特征性；不同辅料的分子结构各不相同，其 MIRS 也具有特征性。中药配方颗粒的 MIRS 可看作浸膏吸收峰与麦芽糊精吸收峰的叠加，而且麦芽糊精含量越高，配方颗粒 MIRS 中麦芽糊精吸收峰越强。因此，根据配方颗粒与麦芽糊精的 MIRS 特征峰的匹配程度相对高低，可以判断配方颗粒中麦芽糊精含量相对高低。

配方颗粒中麦芽糊精含量较低时，麦芽糊精吸收峰被浸膏吸收峰所掩盖。不同品种浸膏的化学成分不同，其 MIRS 吸收峰不同，对麦芽糊精吸收峰的掩盖程度也不同。针对不同品种配方颗粒的检测需求，应当预先获得对应品种纯浸膏与麦芽糊精不同比例混合后的 MIRS，确定配方颗粒 MIRS 中某些吸收峰的位置、强度、形状等特征与麦芽糊精含量的关联性，据此判断待测样品中麦芽糊精的含量范围。麦芽糊精 MIRS 的主要特征峰位于  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ ，所以该波段的配方颗粒 MIRS 特征峰变化与麦芽糊精含量变化的关联性最高。

### 2.3.2 麦芽糊精的 MIRS 半定量检测步骤

**（1）参比样品制备：**单味饮片水煎液（煎煮方法如“1.3.3”项所述）旋蒸浓缩后，加入适量麦芽糊精，冷冻干燥，制得麦芽糊精含量（加入麦芽糊精质量除以干燥后混合物质量）分别为 0%、10%、30%、50%的单味提取物参比样品。

**（2）样品光谱测试：**适量水或乙醇清洁 ATR 附件的内反射晶体表面，溶剂挥干后测量背景光谱；然后取适量样品置于内反射晶体表面，用 ATR 附件自带压杆使样品与内反射晶体表面紧密接触，测量样品光谱。背景光谱与样品光谱测量范围  $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ，光谱分辨率  $4\text{ cm}^{-1}$ ，单张光谱累积扫描 32 次，以透过率（ $T$ ）为纵坐标记录测量结果。

**（3）光谱数据处理：**（1）使用插值功能将所有

光谱横坐标间隔调整为  $1\text{ cm}^{-1}$ ; (2) 光谱纵坐标由透过率转为吸光度; (3) 对光谱进行 ATR 校正; (4) 对光谱进行自动基线校正; (5) 光谱纵坐标归一化, 使  $2000\sim 800\text{ cm}^{-1}$  区域内最高吸光度为 1、最低吸光度为 0; (6) 根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域内相同品种待测样品与参比样品的吸收峰匹配程度, 判断待测样品中麦芽糊精含量范围。

**2.3.3 麦芽糊精的 MIRS 特征峰** 麦芽糊精的 MIRS 峰具有指纹特征性, 不仅决定于组分的分子结构, 还受到晶型、分子相互作用等因素影响。如图 2 所示, 工业级麦芽糊精产品的 MIRS 峰主要包括  $3300\text{ cm}^{-1}$  附近的 O-H 伸缩振动吸收峰、 $2920\text{ cm}^{-1}$  附近的 C-H 伸缩振动吸收峰、 $1640\text{ cm}^{-1}$  附近的 O-H 弯曲振动吸收峰、 $1360\text{ cm}^{-1}$  附近的 C-H 弯曲振动吸收峰、 $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域的 C-O 伸缩振动吸收峰、 $900\text{ cm}^{-1}$  以下区域的糖环骨架振动吸收峰。其中,  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域的吸收峰强度高,  $1150$ 、 $1080$ 、 $1020\text{ cm}^{-1}$  附近的一系列吸收峰构成翼状重叠谱带, 具有很强的辨识度。

配方颗粒生产过程中, 饮片水煎液干燥前后都可能加入麦芽糊精, 干燥过程可能改变麦芽糊精的存在状态, 进而影响其 MIRS 特征峰。如图 2 所示, 麦芽糊精溶于水后以不同方式干燥, 所得产物 MIRS 整体非常相似,  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域吸收峰有细微差别。冷冻干燥或喷雾干燥后, 麦芽糊精  $995\text{ cm}^{-1}$  峰明显减弱, 可能因为这 2 种干燥方式会降低麦芽糊精结晶度, 或者影响氢键等分子相互作用。上述结果说明, 饮片水煎液干燥前后加入的麦芽糊精 MIRS 主要特征峰均位于  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ , 该区域红外光谱可对配方颗粒生产过程不同阶段加入的麦芽糊精进行整体检测。

**2.3.4 中药提取物中麦芽糊精的 MIRS 半定量检测** 本研究使用代表性品种的自制中药浸膏与麦芽糊精

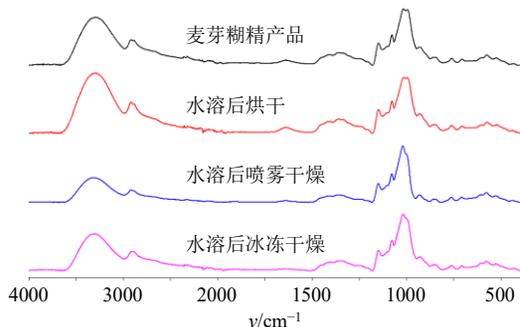


图 2 麦芽糊精不同方式处理后的 MIRS

Fig. 2 MIRS of maltodextrin processed in different ways

不同比例混合物 (麦芽糊精含量分别为 10%、30%、50%), 考察样品 MIRS  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域吸收峰特征与麦芽糊精含量的关联性, 初步建立相应品种配方颗粒中麦芽糊精的 MIRS 半定量检测方法。

图 3 显示了自制金银花浸膏与麦芽糊精不同比例混合物的 MIRS。金银花浸膏的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰在  $1044\text{ cm}^{-1}$ , 而麦芽糊精含量达到 30% 时, 金银花浸膏与麦芽糊精混合物的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位移至  $1022\text{ cm}^{-1}$ , 该波段整体谱带特征与麦芽糊精的光谱特征相符。

图 4、5 分别显示了自制当归浸膏与麦芽糊精不同比例混合物、自制黄芪浸膏与麦芽糊精不同比例混合物的 MIRS。当归浸膏、黄芪浸膏在  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域的特征峰与无定型蔗糖非常相似, 说明当归浸膏、黄芪浸膏中均含有大量蔗糖, 与 HPLC 检测结果相符 (表 4)。

麦芽糊精含量达到 30% 时, 当归浸膏与麦芽糊

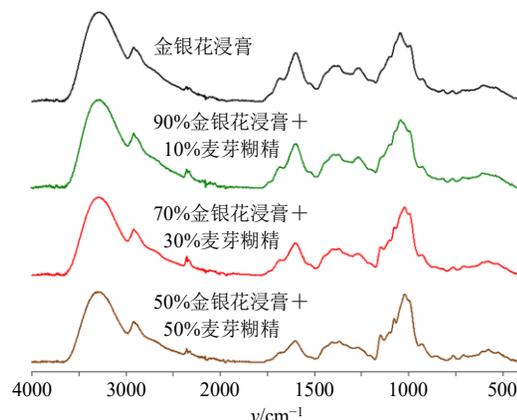


图 3 麦芽糊精含量不同的金银花提取物的 MIRS

Fig. 3 MIRS of *Lonicerae Japonicae Flos* extracts with different contents of maltodextrin

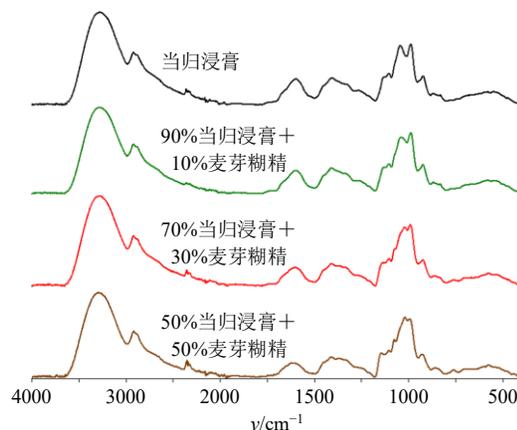


图 4 麦芽糊精含量不同的当归提取物的 MIRS

Fig. 4 MIRS of *Angelicae Sinensis Radix* extracts with different contents of maltodextrin

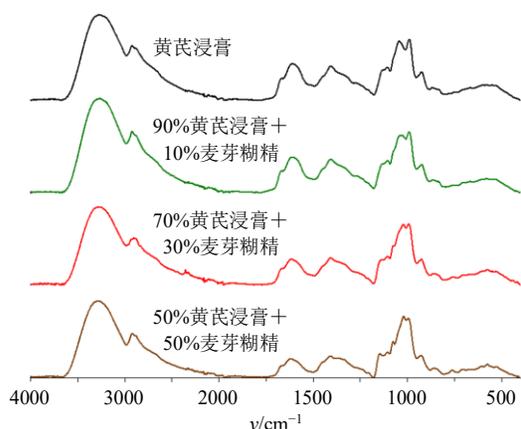


图5 麦芽糊精含量不同的黄芪提取物的 MIRS

Fig. 5 MIRS of *Astragali Radix* extracts with different contents of maltodextrin

精混合物的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位移至  $1021\text{ cm}^{-1}$ , 黄芪浸膏与麦芽糊精混合物的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位移至  $1022\text{ cm}^{-1}$ , 该波段整体谱带特征与麦芽糊精的光谱特征相符。

图6显示了自制党参浸膏与麦芽糊精不同比例混合物的 MIRS。党参浸膏在  $900\text{ cm}^{-1}$  附近的一系列中等强度特征峰与无定型果糖非常相似, 说明党参浸膏中含有较多果糖, 与 HPLC 检测结果相符(表4)。党参浸膏的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰在  $1027\text{ cm}^{-1}$ , 而麦芽糊精含量达到 30% 时, 党参浸膏与麦芽糊精混合物的  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位移至  $1019\text{ cm}^{-1}$ , 该波段整体谱带特征与麦芽糊精的光谱特征相符。

根据上述结果可以初步推断, 金银花、当归、黄芪、党参配方颗粒中麦芽糊精含量达到 30% 左右时, 样品 MIRS 光谱  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域的最强峰位置和整体谱带特征与麦芽糊精相符。

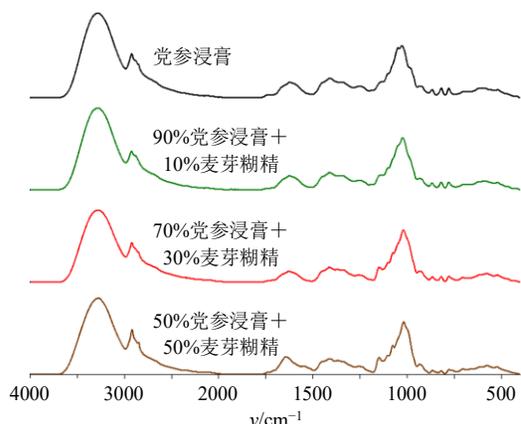


图6 麦芽糊精含量不同的党参提取物的 MIRS

Fig. 6 MIRS of *Codonopsis Radix* extracts with different contents of maltodextrin

#### 2.4 代表性品种配方颗粒中的麦芽糊精检测结果

本研究共收集 4 个厂家生产的金银花、当归、黄芪、党参配方颗粒, 按照投料比例计算上述配方颗粒中麦芽糊精名义含量; 使用“2.1”项和“2.2”项所述 HPLC 方法测量样品酶解前后的 5 种单糖和双糖含量, 根据式(2)计算麦芽糊精检测含量、式(5)计算二糖修正的麦芽糊精检测含量; 使用“2.3”项所述方法测量样品 MIRS, 根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域吸收峰特征判断样品中麦芽糊精含量范围。表5所示为配方颗粒样品酶解前后的果糖、葡萄糖、蔗糖含量(麦芽糖与乳糖均低于检测限), 以及麦芽糊精的 HPLC 与 MIRS 检测结果。

图7显示了不同厂家金银花配方颗粒的 MIRS。根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位置和整体谱带特征, 初步判断 3 批次金银花配方颗粒的麦芽糊精含量均低于 30%, 与麦芽糊精名义含量和 HPLC 检测含量相符。根据式(2)计算的 3 批次金银花配方颗粒的麦芽糊精检测含量均高于名义含量, 推测是蔗糖酶解导致的正误差, 所以二糖修正后麦芽糊精检测含量与名义含量比较接近。

图8显示了不同厂家当归配方颗粒的 MIRS。根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域样品光谱峰与无定型蔗糖的相似性, 可以定性判断 5 批次当归配方颗粒均含有较多蔗糖, 与 HPLC 检测结果一致(蔗糖含量一般超过 40%)。根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位置和整体谱带特征, 初步判断 DG1~DG3 麦芽糊精含量低于 30%, DG4~DG5 麦芽糊精含量超过 30%, 与麦芽糊精名义含量和 HPLC 检测含量相符。根据式(2)计算的 DG1~DG3 麦芽糊精检测含量高于名义含量, 推测是蔗糖酶解导致的正误差明显, 所以二糖修正后麦芽糊精检测含量与名义含量比较接近。根据式(2)计算的 DG4~DG5 麦芽糊精检测含量低于名义含量, 二糖修正后负误差进一步扩大, 可能是生产工艺影响了这些样品中麦芽糊精的溶解度或水解度, 或者样品酶解后葡萄糖含量高、醇沉吸附损失多。

图9显示了不同厂家黄芪配方颗粒的 MIRS。根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域样品光谱峰与无定型蔗糖的相似性, 可以定性判断 6 批次黄芪配方颗粒均含有较多蔗糖, 与 HPLC 检测结果一致(蔗糖含量一般超过 30%)。根据  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位置和整体谱带特征, 初步判断 HQ1~HQ5 麦芽糊精含量低于 30%, HQ6 麦芽糊精含量超过 30%, 与麦

表5 不同厂家中药配方颗粒的麦芽糊精测定结果

Table 5 Determination of maltodextrin in traditional Chinese medicine formula granules of different producers

品种	编号	厂家	酶解前质量分数/%			酶解后质量分数/%			麦芽糊精/%			
			果糖	葡萄糖	蔗糖	果糖	葡萄糖	蔗糖	名义含量	检测含量	二糖修正	MIRS
金银花	JYH1	C	5.2	4.6	14.7	9.8	11.9	7.5	3.0	6.6	3.2	<30
	JYH2	A	7.8	5.0	7.0	9.6	12.7	4.4	4.0	7.0	5.7	<30
	JYH3	D	8.1	6.3	10.2	10.9	29.2	5.9	18.8	20.6	18.6	<30
当归	DG1	D	2.9	2.1	43.9	10.9	27.4	29.7	18.1	22.8	16.1	<30
	DG2	D	2.9	2.3	43.5	12.4	31.4	25.9	20.2	26.2	17.9	<30
	DG3	D	2.5	2.1	44.4	10.3	32.5	29.0	20.8	27.4	20.1	<30
	DG4	A	1.3	1.3	39.7	8.6	39.7	25.1	36.0	34.6	27.7	≥30
	DG5	B	2.2	1.5	44.7	9.5	37.0	32.3	38.0	31.9	26.0	≥30
黄芪	HQ1	D	4.5	1.5	45.1	14.8	29.5	26.2	18.0	25.1	16.2	<30
	HQ2	D	3.2	1.3	36.4	12.2	33.7	19.6	24.3	29.1	21.1	<30
	HQ3	D	2.8	1.0	36.4	11.6	35.3	22.5	26.3	30.9	24.3	<30
	HQ4	D	2.8	1.1	36.4	12.6	38.5	23.7	28.1	33.7	27.7	<30
	HQ5	D	3.7	1.9	30.4	12.8	42.2	19.6	29.0	36.2	31.1	<30
	HQ6	C	2.8	1.4	25.5	9.0	45.6	13.8	42.0	39.8	34.2	≥30
党参	DS1	D	19.0	3.2	8.6	26.9	26.6	6.3	22.7	21.1	20.0	<30
	DS2	D	24.8	3.1	4.0	27.4	30.2	3.2	27.1	24.4	24.0	<30
	DS3	D	25.1	2.7	4.1	27.8	30.4	3.2	27.1	24.9	24.5	<30
	DS4	D	24.9	2.5	3.9	27.5	30.4	3.2	27.1	25.1	24.7	<30
	DS5	D	15.5	0.0	7.7	23.8	33.0	5.6	27.8	29.7	28.7	<30
	DS6	B	20.1	5.4	1.3	22.4	57.3	1.1	42.0	46.7	46.6	≥30
	DS7	B	22.2	4.9	4.3	23.5	41.6	2.9	45.2	33.0	32.4	≥30
	DS8	C	23.5	4.2	1.3	24.5	41.6	1.1	47.7	33.7	33.6	≥30
	DS9	A	20.8	3.0	2.2	22.9	44.3	1.7	49.0	37.1	36.9	≥30
	DS10	D	11.1	2.1	4.4	17.0	55.5	3.6	49.6	48.1	47.7	≥30
	DS11	A	20.9	2.4	0.0	22.0	54.6	0.0	51.8	46.9	46.9	≥30

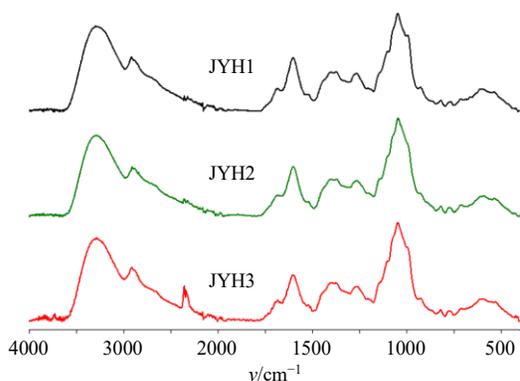


图7 不同厂家金银花配方颗粒的MIRS

Fig. 7 MIRS of *Loniceræ Japonicæ Flos* formula granules of different producers

芽糊精名义含量和HPLC检测含量相符。根据式(2)计算的HQ1~HQ5麦芽糊精检测含量高于名义含

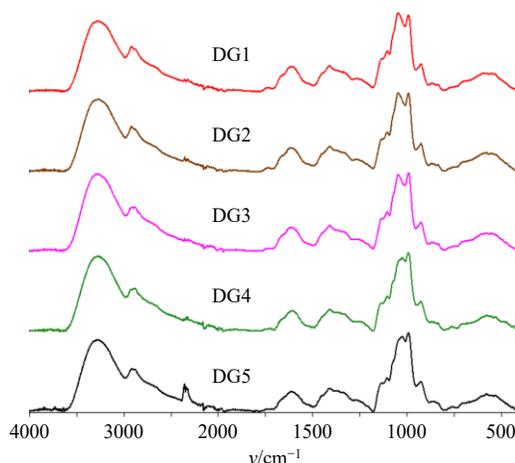


图8 不同厂家当归配方颗粒的MIRS

Fig. 8 MIRS of *Angelicæ Sinensis Radix* formula granules of different producers

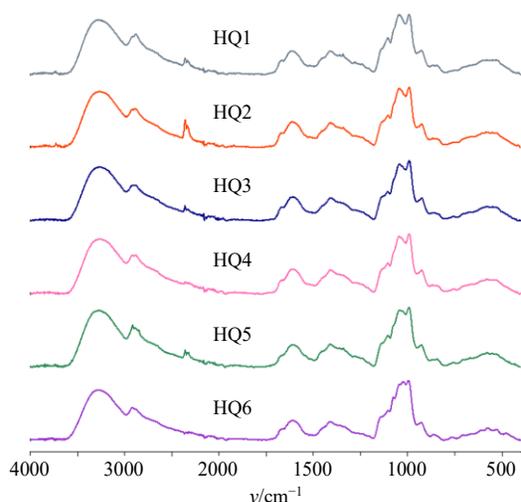


图9 不同厂家黄芪配方颗粒的 MIRS

Fig. 9 MIRS of *Astragalus Radix* formula granules of different producers

量,推测是蔗糖酶解导致的正误差明显,所以二糖修正后麦芽糊精检测含量与名义含量比较接近。根据式(2)计算的HQ6麦芽糊精检测含量低于名义含量,二糖修正后负误差进一步扩大,可能是生产工艺影响了该样品中麦芽糊精的溶解度或水解度,或者样品酶解后葡萄糖含量高、醇沉处理时吸附损失较多。

图10显示了不同厂家党参配方颗粒的MIRS。根据900 cm<sup>-1</sup>附近样品光谱峰与无定型果糖的相似性,可以定性判断11批次党参配方颗粒均含有较多果糖,与HPLC检测结果一致(果糖含量一般超过20%)。根据1200~900 cm<sup>-1</sup>区域最强峰位置和整体谱带特征,初步判断DS1~DS5麦芽糊精含量低于30%,DS6~DS11麦芽糊精含量超过30%,与麦芽糊精名义含量和HPLC检测含量相符。党参配方颗

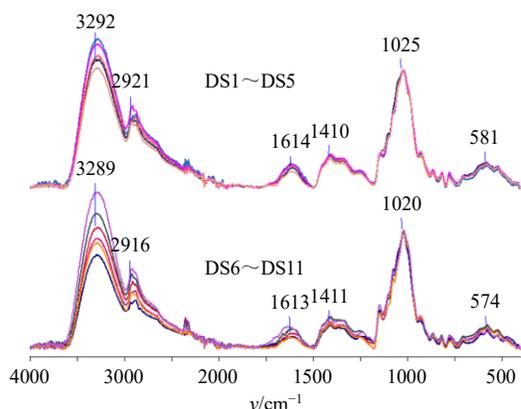


图10 不同厂家党参配方颗粒的 MIRS

Fig. 10 MIRS of *Codonopsis Radix* formula granules of different producers

粒中蔗糖很少,所以二糖修正对麦芽糊精检测含量的影响不大。厂家D的党参配方颗粒中麦芽糊精名义含量和HPLC检测含量接近,而其他厂家产品的检测误差较大。

综上所述,根据样品MIRS 1200~900 cm<sup>-1</sup>区域的最强峰位置和整体谱带特征,可以快速判断金银花、当归、黄芪、党参配方颗粒中麦芽糊精含量是否达到30%左右;根据HPLC检测的样品酶解前后的葡萄糖、蔗糖含量差异,可以较为准确地定量检测金银花、当归、黄芪、党参配方颗粒中麦芽糊精。需要注意的是,不同厂家同一品种配方颗粒的麦芽糊精HPLC定量误差的水平不同,说明生产工艺可能一定程度上影响配方颗粒中麦芽糊精的溶解度或水解度。

### 3 讨论

本研究建立的麦芽糊精HPLC定量检测方法是基于样品酶解前后的葡萄糖等成分含量差异的间接测定方法,存在系统性的负误差和正误差。相比于根据生产投料计算的麦芽糊精“名义含量”,按照式(2)计算的麦芽糊精“检测含量”存在系统性负误差,主要原因包括:(1)葡萄糖与麦芽糊精换算公式有偏差。麦芽糊精分子的n值不可能无限大,忽略式(1)等号右侧最后一项导致根据式(2)计算的麦芽糊精含量低于真实值。麦芽糊精DE值越高,该原因造成的负误差可能越大;(2)麦芽糊精含有不能转化为葡萄糖的成分。按照相关国家标准<sup>[6]</sup>,固体麦芽糊精的水分≤6%,硫酸灰分≤0.5%,溶解度≥98%,水分、灰分以及其他难溶成分不能转化为葡萄糖,导致根据式(2)计算的麦芽糊精含量低于名义值;(3)样品处理过程的麦芽糊精或葡萄糖损失。配方颗粒生产过程可能导致麦芽糊精溶解度或水解度下降。为了便于HPLC测试,样品溶液需要醇沉除去蛋白质、多糖等大分子,沉淀可能吸附葡萄糖等成分。基于上述原因,样品中没有明显的淀粉、蔗糖等干扰时,根据式(2)计算的麦芽糊精“检测含量”预期低于根据生产投料计算的麦芽糊精“名义含量”。导致系统性负误差的因素比较复杂,与样品自身组成、麦芽糊精纯度、样品处理步骤等都有关系,所以很难进行统一修正。根据本研究所用样品的实际误差情况,粗略估计根据式(2)计算的麦芽糊精“检测含量”约为根据生产投料计算的麦芽糊精“名义含量”的90%。

本研究建立的麦芽糊精HPLC定量检测方法的

正误差主要源于配方颗粒中能够酶解产生葡萄糖的浸膏成分或其他辅料，不同品种配方颗粒的正误差水平不同。对于浸膏含有较多蔗糖、葡聚糖（例如淀粉）等可酶解成分的配方颗粒品种，建议对麦芽糊精含量的 HPLC 检测结果进行修正：如果能够获得纯浸膏酶解后葡萄糖增加量数据，可根据式（4）对麦芽糊精检测含量进行浸膏修正，降低蔗糖、葡聚糖等各类成分造成的正误差；否则，只能根据式（5）对麦芽糊精检测含量进行二糖修正，降低蔗糖、麦芽糖、乳糖造成的正误差。如果配方颗粒中添加了辅料乳糖或蔗糖，二糖修正可以有效降低二者对麦芽糊精 HPLC 检测结果的干扰。但是，如果辅料为可溶性淀粉等能够酶解产生葡萄糖、分子结构单元与麦芽糊精非常相似的物质，其对麦芽糊精检测结果的干扰难以消除，此时可以考虑对所有能够酶解产生葡萄糖的辅料进行总体控制。

本研究建立的麦芽糊精 MIRS 半定量检测方法是基于样品光谱  $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$  区域最强峰位置和整体谱带特征的直接测定方法。样品未经分离提取而直接检测时，所得到的红外光谱是浸膏成分吸收信号与辅料成分吸收信号的叠加结果。不同品种配方颗粒的浸膏成分各不相同，对于麦芽糊精吸收信号的干扰程度也不相同。所以，不同品种配方颗粒的 MIRS 特征峰与麦芽糊精含量关系需要分别研究。相比于依赖多元校正模型的 NIRS 或 MIRS 定量检测方法，麦芽糊精 MIRS 半定量检测方法的建立成本更低，而且可用于厂家少、批次少的配方颗粒品种。

本研究使用 20 种中药提取物和配方颗粒考察了 HPLC 检测方法的品种适用性，其中土鳖虫、淡豆豉、葶苈子含有大量蛋白质，白芍、赤芍、炒神曲、拳参、苦参、山豆根含有大量淀粉（葡聚糖），党参、桔梗含有大量多糖（非葡聚糖），当归含有大量蔗糖，乌梅含有较多有机酸，刺五加、苦地丁、蒲公英、益母草、槲寄生含有较多黄酮类成分，制乳香是树脂类药物的代表，蒲黄炭是炭药的代

上述各类成分中，淀粉和蔗糖对于麦芽糊精测定结果有阳性干扰，蛋白质等大分子类成分可能在醇沉阶段吸附葡萄糖，各种小分子类成分可能对麦芽糊精测定结果有未知干扰（例如影响糖化酶活性）。因此，上述品种能够较广泛地反映不同类型中药成分对 5 种单糖和双糖、麦芽糊精的含量测定准确度的影响。鉴于淀粉和高含量蔗糖对麦芽糊精测定结果

的明显影响，本研究使用不含淀粉、蔗糖含量适中的金银花初步建立麦芽糊精检测方法。然后，用富含蔗糖的当归、富含蔗糖和淀粉的黄芪考察淀粉、蔗糖对麦芽糊精检测结果干扰程度，比较浸膏修正、二糖修正 2 种方法对于淀粉、蔗糖 2 种干扰的校正效果。基本不含淀粉、蔗糖含量极低、富含果糖与果聚糖的党参一方面可以作为阴性对照，侧面反映淀粉、蔗糖对麦芽糊精的干扰程度，另一方面可以评价糖化酶水解的选择性，反映非葡聚糖类多糖对麦芽糊精检测结果的干扰程度。

使用本研究建立的 HPLC 方法定量检测配方颗粒中麦芽糊精，需要进行酶解前后 2 次测试，单个样品的处理和测试共需 10 h 以上，消耗糖化酶、乙醇、乙腈、盐酸等试剂，检测限约 1%；MIRS 方法半定量检测配方颗粒中麦芽糊精，样品无需处理，只进行一次光谱测试，耗时约 1 min，不消耗其他试剂，检测限约 10%~30%。因此，本研究推荐将 HPLC 作为灵敏度高、准确度高的中药配方颗粒辅料麦芽糊精的参考检测方法，而 MIRS 作为快速检测方法，主要用于企业内控、快速筛查、现场检测等灵敏度和准确度要求相对较低的场景。例如，只需比较待测样品与参比样品的麦芽糊精含量是否近似时，MIRS 方法即可满足要求。企业对原料、中间体、产品的麦芽糊精含量进行评价时，可采用“MIRS 全检+HPLC 抽检”模式，提高效率，降低成本，节约资源。

本研究初步建立了中药配方颗粒辅料麦芽糊精的 HPLC 定量检测方法与 MIRS 半定量检测方法，有助于从辅料角度进一步完善配方颗粒的质量标准，也可以根据辅料含量间接评价出膏率等质量指标。然而，本研究使用的配方颗粒品种和厂家有限，后续还需更广泛的配方颗粒样品对 HPLC 和 MIRS 检测方法进行验证和完善。另外，不同品种配方颗粒的浸膏成分不同，对麦芽糊精检测过程的干扰也不同，所以制订单个品种配方颗粒的麦芽糊精检测标准时还需要具体问题具体讨论。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的通告 (2021 年第 16 号) [EB/OL]. (2021-01-26) [2023-01-30]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20210210145453181.html>.

- [2] Chen J B, Sun S Q, Zhou Q. Rapid identification and quantification of carbohydrate excipients in *Gardeniae Fructus* formula granules by ATR-FTIR spectroscopy [J]. *Anal Methods*, 2016, 8(47): 8329-8336.
- [3] Chen J B, Sun S Q, Zhou Q. Direct and model-free detection of carbohydrate excipients in traditional Chinese medicine formula granules by ATR-FTIR microspectroscopic imaging [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(11): 2893-2904.
- [4] 侯瑾, 张平, 孙明伟, 等. 山东省中药配方颗粒备案审查现状及问题思考 [J]. *药学研究*, 2022, 41(10): 697-700.
- [5] 戴胜云, 杨茂蕊, 李文静, 等. 喷雾干燥在中药粉体研究中的应用进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(14): 200-208.
- [6] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 淀粉糖质量要求 第6部分: 麦芽糊精: GB/T 20882.6—2021 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2021: 1.
- [7] 李兵, 肖香兰, 杨永红, 等. 国内外淀粉含量的检测标准现状及检测方法研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(9): 3830-3839.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中淀粉的测定: GB 5009.9—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-10.
- [9] 周群, 李静, 孙素琴, 等. 中药配方颗粒红外光谱法的快速鉴别 [J]. *分析化学*, 2003, 31(3): 292-295.
- [10] 黄昊, 李静, 秦竹, 等. 中药配方颗粒红外指纹图谱研究 [J]. *分析化学*, 2003, 31(7): 828-832.
- [11] 汤俊明, 孙素琴, 袁子民, 等. 中药配方颗粒红外指纹图谱的无损快速鉴别研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(5): 554-556.
- [12] Guo T, Feng W H, Liu X Q, et al. Fourier transform mid-infrared spectroscopy (FT-MIR) combined with chemometrics for quantitative analysis of dextrin in Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) granule [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 123: 16-23.
- [13] 刘艳, 李燕青, 丁姗姗, 等. 杭白菊提取物中辅料麦芽糊精的中红外快速定量分析 [J]. *药学研究*, 2022, 41(6): 373-377.
- [14] 陈兆昱, 金伟锋, 万海同, 等. 基于 TOPSIS 法的前馈控制在丹参醇提液均化中的应用 [J]. *中草药*, 2022, 53(8): 2302-2311.
- [15] 李燕青, 丁姗姗, 郭德慧. 葛根提取物中麦芽糊精的中红外快速定量分析 [J]. *现代食品科技*, 2020, 36(2): 283-291.
- [16] 刘倩, 徐冰, 罗赣, 等. 丹参提取物中辅料糊精的近红外快速定量分析 [J]. *世界中医药*, 2013, 8(11): 1287-1289.
- [17] 王馨, 徐冰, 薛忠, 等. 中药陈皮提取物粉末中糊精含量近红外分析方法的验证和不确定度评估 [J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(2): 339-344.
- [18] 候化蕊, 徐芳芳, 张欣, 等. 基于近、中红外光谱技术的热毒宁注射液制备过程中金银花浓缩过程含量预测研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(2): 520-533.
- [19] 吴婧, 孙素琴, 周群, 等. 丹参配方颗粒红外无损快速分析研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2007, 27(8): 1535-1538.
- [20] 中国药典 [S]. 四部. 2022: 40-41.

[责任编辑 郑礼胜]