

ICS **, ***, **
C**



团体标准

T/CACM *****—20**

水蛭（蚂蟥）质量控制技术规范

Technical Specification for Quality Control of *Whitmania pigra*

（文件类型：公示稿）

（完成时间：2023 年 3 月）

20**-**-**发布

20**-**-**实施

中华中医药学会发布

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 外观性状	2
5 采收加工	2
5.1 产地	2
5.2 采收加工方法	2
5.3 可追溯性	2
6 检查	3
6.1 金属杂质	3
6.2 二氧化硫残留量	3
6.3 其他检查项	3
7 指纹图谱	3
8 包装	4
9 运输	4
10 贮藏	4
11 其他	4
附录 A 水蛭(蚂蟥)的基原研究(DNA 条形码)	5
附录 B 水蛭(蚂蟥)的可追溯体系建立	6
附录 C 中华人民共和国药典对水蛭(蚂蟥)的相关规定	8
参考文献	10

前 言

本文件按照GB/T1.1—2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》规定的规则起草。

本文件由中国医学科学院药用植物研究所提出。

本文件由中华中医药学会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院药用植物研究所、牡丹江友搏药业有限责任公司、天津中医药大学、北京友搏药业有限责任公司。

本文件主要起草人：韩建萍、李振国、田晓轩、务勇圣、倪开岭、郝明、郑顺亮、周剑波、张立强、杜宇生、王永宽、王士青、朱志国、王功涛、周桂芳、刘文堂、张孝晨、臧德法。

引 言

蚂蟥 (*Whitmania pigra*) 在2020年版《中华人民共和国药典》收载的中药名为水蛭, 是中药水蛭 (HIRUDO) 的基原动物之一。目前, 水蛭 (蚂蟥) 的产区主要集中在山东省、安徽省、江苏省等地, 多为野生资源; 由于地域不同和种原差别, 水蛭 (蚂蟥) 的药理作用可能存在差异; 采集初加工有矾制、清水吊干等方法, 对中药尤其是中药注射剂的质量稳定性影响较大。2020年版《中华人民共和国药典》的水蛭 (蚂蟥) 质量标准的检测内容仍欠充分。为进一步保障原料基原正确、稳定, 中成药原料资源可持续发展, 确保中成药疗效, 提高水蛭 (蚂蟥) 的质量标准、制定质量控制技术规范标准是十分必要的。

水蛭（蚂蟥）质量控制技术规范

1 范围

本文件在2020年版《中华人民共和国药典》标准基础上，新增描述了水蛭（蚂蟥）的采收加工方法（含可追溯性）、金属杂质检测及中药指纹图谱等。

本文件适用于来源为水蛭科动物蚂蟥（*Whitmania pigra*）的水蛭药材。

本文件适用于中华人民共和国境内，为药材采集者、消费者、生产者、经销商、政府等相关方在水蛭（蚂蟥）的采集、选购、生产、经营、质量追溯管理以及保护与监管等方面提供依据。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅此版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

2020年版《中华人民共和国药典》一部。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

蚂蟥 Mahuang

为水蛭科动物蚂蟥 *Whitmania pigra* 的干燥全体。

3.2

追溯

通过记录和标识，追踪和溯源客体的历史、应用情况或所处位置的活动；包括追踪和溯源两个方面。

3.3

盐货

是指运用盐制法加工的蚂蟥，基本操作如下：将蚂蟥放入器皿内，按一层盐一层蚂蟥装满器皿，将死后的蚂蟥干燥而得。

3.4

碱货

是指运用碱烧法加工的蚂蟥，基本操作如下：将蚂蟥与食用碱的粉末同时放入器皿内，上下翻动蚂蟥，边翻边揉搓，待蚂蟥收缩变小后，再洗净干燥而得。

4 外观性状

呈扁平纺锤形，有多数环节，长 4~10cm，宽 0.5~2cm。背部黑褐色或黑棕色，稍隆起，用水浸后，可见黑色斑点排成 5 条纵纹；腹面平坦，棕黄色。两侧棕黄色，前端略尖，后端钝圆，两端各具 1 吸盘，前吸盘不显著，后吸盘较大。质脆，易折断，断面胶质状。气微腥。（参见附录 A 图 A. 1。）

不得检出水蛭其它基原物种，蚂蟥与水蛭其它基原物种外观性状区别要点见表 1。

表 1 蚂蟥与水蛭其它基原物种外观性状区别要点

比较项目	蚂蟥 (<i>Whitmania pigra</i>)	柳叶蚂蟥 (<i>Whitmania acranulata</i>)	水蛭 (<i>Hirudo nipponica</i>)
形状	扁平纺锤形	狭长而扁	扁长圆柱形，体多弯曲 扭转
宽	0.5~2cm	0.1~0.5cm	0.2~0.3cm
长	4~10cm	5~12cm	2~5cm

5 采收加工

5.1 产地

主产区为山东微山湖（东经 116° 34′ ~117° 21′ ，北纬 34° 27′ ~35° 20′ ）产区，辅助产区为位于同一水系京杭大运河的江苏省扬州市宝应县（东经 119° 07′ ~119° 42′ ，北纬 33° 02′ ~33° 24′ 之间）、安徽省安庆市宿松县（东经 115° 52′ ~116° 34′ 40″ ，北纬 29° 47′ 20″ ~30° 25′ 30″ 之间）地区。

（参见附录 A 图 A. 2。）

5.2 采收加工方法

夏、秋二季捕捉，借助地笼、渔网等工具或人工捕捉水蛭（蚂蟥），选出虫体长度 6~15cm 的蚂蟥，未达到 6cm 的将其放生，以保证资源的可持续利用。将筛选后的蚂蟥用清水冲洗干净，用钢丝或线绳自尾部穿过，悬挂在阳光充足的场地进行晾晒，其间做好防护措施，避免蝇虫侵害。晾至成型半干后从钢丝或线绳上取下，平铺至网布上继续晾干，水分控制在 18.0%以下，保存在干燥处，不得有霉变、腐烂、虫蛀。盐货、碱货等其他加工方式不予采用。

5.3 可追溯性

通过利用现代信息技术建立的药材追溯体系，对影响药材质量的关键追溯点进行明确，供应商或农户均通过手机微信小程序录入药材采收追溯数据（包括：农户姓名、身份证号码、手机号，收货编号、药材品种、药材规格、产地、药材重量、收货日期、特记事项，产地省市、产地详细地址、产地坐标、产地图片，采收时间、采收过程图片及视频，晾晒时间、晾晒过程图片及视频），实现四大环节的可追溯，即追溯到农户（实名登记）、追溯到产地（自动定位）、追溯到环境（产地照片）、追溯到药材（收获数量），以保障水蛭（蚂蟥）的可追溯性。

6 检查

6.1 金属杂质

使用具有自动剔除金属异物功能的金属检测机，对药材进行逐一检测，直至剔除所有掺入金属杂质的个体。合格药材中不得检出金属杂质。

6.2 二氧化硫残留量

照二氧化硫残留量测定法（通则 2331）测定，不得过 150mg/kg。

6.3 其他检查项

水分、总灰分、酸不溶性灰分、酸碱度、重金属及有害元素、黄曲霉毒素等检查项均应符合 2020 年版《中华人民共和国药典》一部对水蛭（蚂蟥）的相关规定（参见附录 C）。

7 指纹图谱

照高效液相色谱法（通则 0512）测定。

色谱条件与系统适用性实验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（柱长为 25cm，内径为 4.6mm，粒径为 5 μ m）；以 0.01mol/L 磷酸二氢钾溶液为流动相 A，以 50%甲醇为流动相 B，按下表中的规定进行梯度洗脱；检测波长为 254nm；柱温为室温；流速为每分钟 0.8ml。理论板数按次黄嘌呤峰计算应不低于 7000。

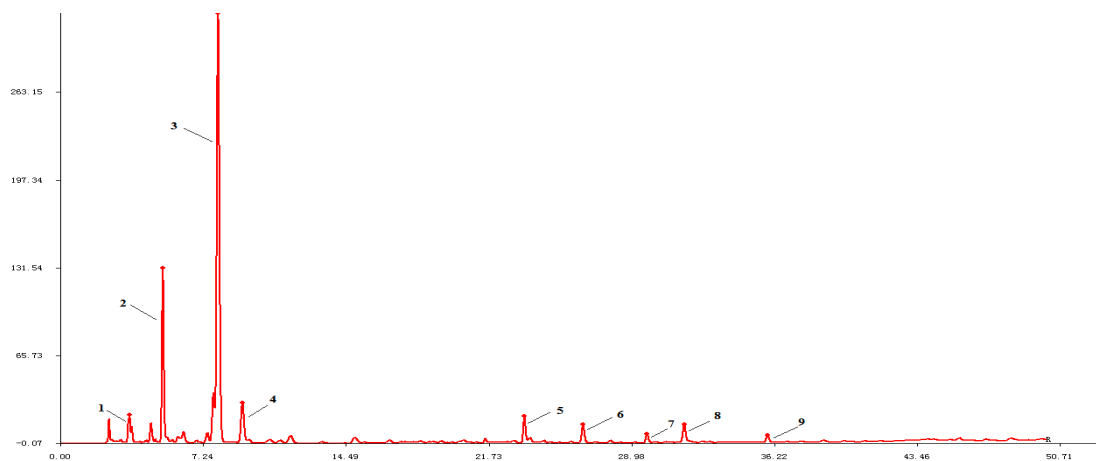
时间（分钟）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
0~5	100	0
5~10	100→99	0→1
10~50	99→0	1→100

参照物溶液制备 取次黄嘌呤对照品 10mg，精密称定，置 100ml 量瓶中，加 0.01mol/L 磷酸二氢钾溶液使溶解，并稀释至刻度，摇匀，即得。

供试品溶液制备 取水蛭（蚂蟥）最粗粉 1g，精密称定，置离心管中，加 0.9%氯化钠溶液 10ml，室温放置 16 小时，离心，取上清液用微孔滤膜（0.45 μ m）滤过，即得。

测定法 分别精密吸取参照物溶液 10 μ l 与供试品溶液 6 μ l，注入液相色谱仪，记录 50 分钟内的色谱图。

按中药色谱指纹图谱相似度评价系统，供试品指纹图谱与对照指纹图谱经相似度计算，相似度应大于 0.90。



水蛭（蚂蟥）对照指纹图谱

峰 3：次黄嘌呤

8 包装

包装上应当有清晰标签，不易脱落或者损坏；标示内容包括品名、来源、规格、产地、数量或重量、采收日期、包装日期、保质期等信息。

9 运输

运输工具应具较好的通气性，以保持干燥。在阴雨天，应严密防雨、防潮。在运输过程中，所用搬运工具必须洁净卫生，不能引入污染。

10 贮藏

置干燥处，防蛀。

11 其他

【鉴别】、**【含量测定】**应符合 2020 年版《中华人民共和国药典》一部对水蛭（蚂蟥）的相关规定（参见附录 C）。

附录 A

(资料性附录)

水蛭（蚂蟥）的基原研究（DNA 条形码）



图 A.1 水蛭（蚂蟥）（左-背面观，右-腹面观）

通过基原研究（DNA 条形码）和产地研究来进一步明确水蛭（蚂蟥）的产地。

正品蚂蟥与常见混伪品如光润金线蛭、菲牛蛭等形态差异很大，容易鉴别。参照《中华人民共和国药典》四部“中药材 DNA 条形码分子鉴定法指导原则”完成了水蛭（蚂蟥）DNA 条形码鉴定研究。通过对山东省微山湖地区 3 批约 3400 条水蛭进行研究，蚂蟥占比均为 100%，不同批次蚂蟥基原稳定。

将水蛭(蚂蟥)主产区确定为山东微山湖(东经 $116^{\circ} 34'$ ~ $117^{\circ} 21'$, 北纬 $34^{\circ} 27'$ ~ $35^{\circ} 20'$)产区，辅助产区确定为位于同一水系京杭大运河的江苏省扬州市宝应县（东经 $119^{\circ} 07'$ ~ $119^{\circ} 42'$, 北纬 $33^{\circ} 02'$ ~ $33^{\circ} 24'$ 之间）、安徽省安庆市宿松县（东经 $115^{\circ} 52'$ ~ $116^{\circ} 34' 40''$, 北纬 $29^{\circ} 47' 20''$ ~ $30^{\circ} 25' 30''$ 之间）地区（采集了辅助产区多批次样品，按质量标准进行检测，符合质控要求），保证原料品质稳定。



图 A.2 水蛭（蚂蟥）主产区

附录 B

（资料性附录）

水蛭（蚂蟥）的可追溯体系建立

水蛭（蚂蟥）药材目前大部分通过野生捕捉获得，针对这一特点，结合中药质量追溯体系发展现状和追溯政策要求及相关标准，利用互联网、物联网技术，建立了从野生捕捉到市场流通的水蛭（蚂蟥）药材追溯体系，结合广大农户的文化水平和手机微信的普及度，最终确定通过手机微信小程序录入原料采收追溯数据。

建立的水蛭（蚂蟥）追溯体系可以为所有供应商开放帐号，供应商通过手机端微信小程序进行登陆，在药材采收时进行数据的录入工作，包括产地定位、采收人员信息、采收现场图片/视频和采收数量等信息。

供应商或农户在打开小程序后，可以看到对应原料的药典质量标准 and 团体标准规定。这些内容以图片、文字、视频等多媒体的方式展示，便于农户直观查看和学习，主要包括采收方式、加工方法、挑选的质量要求等内容，可作为供应商或农户采收和加工药材的参考标准。

整个水蛭（蚂蟥）药材的追溯体系建立了四大追溯环节，18 个关键质量追溯点（包括：农户姓名、身份证号码、手机号，收货编号、药材品种、药材规格、产地、药材重量、收货日期、特记事项，产地省市区、产地详细地址、产地坐标、产地图片，采收时间、采收过程图片及视频，晾晒时间、晾晒过程图片及视频）。可追溯到农户（实名登记）、追溯到产地（自动定位）、追溯到环境（产地照片）、追溯到药材（收货数量），实现对水蛭（蚂蟥）药材的追溯，确保其质量和安全。

图 B.1 为已建立的药材追溯小助手（微信小程序）中的相关截图信息，包括药材溯源登记、药材发货登记、农户档案溯源、药材档案信息和供应商资质信息等。



图 B.1 水蛭（蚂蚱）-药材追溯小助手（微信小程序）

附录 C

（规范性附录）

中华人民共和国药典对水蛭（蚂蟥）的相关规定

以下为 2020 年版《中华人民共和国药典》一部对水蛭（蚂蟥）【性状】、【鉴别】等的有关规定：

【性状】

蚂蟥 呈扁平纺锤形，有多数环节，长 4~10cm，宽 0.5~2cm。背部黑褐色或黑棕色，稍隆起，用水浸后，可见黑色斑点排成 5 条纵纹；腹面平坦，棕黄色。两侧棕黄色，前端略尖，后端钝圆，两端各具 1 吸盘，前吸盘不显著，后吸盘较大。质脆，易折断，断面胶质状。气微腥。

【鉴别】

取本品粉末 1g，加乙醇 5ml，超声处理 15 分钟，滤过，取滤液作为供试品溶液。另取水蛭对照药材 1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述两种溶液各 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以环己烷-乙酸乙酯（4：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同的紫红色斑点；紫外光灯（365nm）下显相同的橙红色荧光斑点。

【检查】

水分 不得过 18.0%（通则 0832 第二法）。

总灰分 不得过 8.0%（通则 2302）。

酸不溶性灰分 不得过 2.0%（通则 2302）。

酸碱度 取本品粉末（过三号筛）约 1g，加入 0.9%氯化钠溶液 10ml，充分搅拌，浸提 30 分钟，并时时振摇，离心，取上清液，照 pH 值测定法（通则 0631）测定，应为 5.0~7.5。

重金属及有害元素 照铅、镉、砷、汞、铜测定法（通则 2321 原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法）测定，铅不得过 10mg/kg、镉不得过 1mg/kg、砷不得过 5mg/kg、汞不得过 1mg/kg。

黄曲霉毒素 照真菌毒素测定法（通则 2351）测定。

本品每 1000g 含黄曲霉毒素 B₁ 不得过 5 μ g，黄曲霉毒素 G₂、黄曲霉毒素 G₁、黄曲霉毒素 B₂ 和黄曲霉毒素 B₁ 的总量不得过 10 μ g。

【含量测定】

取本品粉末（过三号筛）约 1g，精密称定，精密加入 0.9%氯化钠溶液 5ml，充分搅拌，浸提 30 分钟，并时时振摇，离心，精密量取上清液 100 μ l，置试管（8mm×38mm）中，加入含 0.5%（牛）纤维蛋白原（以凝固物计）的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液^[注 1]（临用配制）200 μ l，摇匀，置水浴中（37℃±0.5℃）温浸 5 分钟，滴加每 1ml 中含 10 单位的凝血酶溶

液^[注2]（每4分钟滴加1次，每次2μl，边滴加边轻轻摇匀）至凝固，记录消耗凝血酶溶液的体积，按下式计算：

$$U = \frac{C_1 V_1}{C_2 V_2}$$

式中 U 为每1g含凝血酶活性单位，U/g；

C_1 为凝血酶溶液的浓度，μ/ml；

C_2 为供试品溶液的浓度，g/ml；

V_1 为消耗凝血酶溶液的体积，μl；

V_2 为供试品溶液的加入量，μl。

中和一个单位的凝血酶的量，为一个抗凝血酶活性单位。

本品每1g含抗凝血酶活性应不低于3.0U。

注：[1]三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液的配制 取0.2mol/L三羟甲基氨基甲烷溶液25ml与0.1mol/L盐酸溶液约40ml，加水至100ml，调节pH值至7.4。

[2]凝血酶溶液的配制 取凝血酶试剂适量，加生理盐水配制成每1ml含凝血酶10个单位的溶液（临用配制）。

【性味与归经】咸、苦，平；有小毒。归肝经。

【功能与主治】破血通经，逐瘀消癥。用于血瘀经闭，癥瘕痞块，中风偏瘫，跌扑损伤。

【用法与用量】1～3g。

【注意】孕妇禁用。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020. 85-86.
- [2] 李振国. 一种水蛭指纹图谱的建立方法和水蛭药材的鉴别方法: 中国, 200610001835.4 [P]. 2006-01-24.
- [3] 臧德法, 叶雄平, 牟长军. 标准化健康养水蛭 [M]. 化学工业出版社, 2016.
- [4] 韩建萍, 宋经元, 姚辉, 等. 中药材 DNA 条形码鉴定的基因序列比较 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1056-1061.
- [5] 陈晓辰, 宋经元, 董林林, 等. 宏基因组学与道地药材研究[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2315-2319.
- [6] 刘晓帆, 刘春生, 杨瑶琨, 等. 基于 COI 基因的水蛭及其混伪品的 DNA 条形码研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2013, 1(1): 63-66.
- [7] 李振国, 田晓轩, 张环宇, 王文秀, 倪开岭, 郝明, 张孝晨, 张立强, 等. 一种引物组合物及其在鉴定宽体金线蛭中的应用: 中国, 201911127667.7 [P]. 2019-11-18.
- [8] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [9] 李振国, 陈艳明, 务勇圣. 一种水蛭的 DNA 条形码分子鉴定方法: 中国, 201410162545.2 [P]. 2014-04-21.
- [10] 倪开岭, 张艳春. 水蛭、地龙仓储变质的原因分析 [J]. 牡丹江师范学院学报(自然科学版), 2003(2): 10-11.
- [11] 刘武占, 范建伟, 李艳芳, 邱新建, 刘向东, 苏瑞强, 赵志全. HPLC 法同时测定水蛭(蚂蟥)中 7 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(8): 1417-1421.