

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.24.008

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌对开胃健脾丸指纹图谱和有效成分含量的影响

舒婷, 黄湘杰[△]

(湖南省湘乡市人民医院药剂科, 湖南 湘潭 411400)

摘要:目的 探讨 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌对开胃健脾丸有效成分的影响及辐照前后指纹图谱的变化。方法 色谱柱为Agilent Zorbax-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.5%甲酸溶液, 梯度洗脱, 检测波长分别为220 nm(检测白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ及党参炔苷)、275 nm(检测白术内酯Ⅰ)、300 nm(检测橙皮苷), 柱温为30℃, 进样量为10 μL; 建立开胃健脾丸高效液相色谱指纹图谱, 同时以0.3, 5, 8 kGy剂量的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照样品, 检测白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ、党参炔苷及橙皮苷的含量, 以及计算指纹图谱相似度。结果 当 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照剂量不超过8 kGy时, 白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ、党参炔苷及橙皮苷的指纹图谱和含量无明显变化。结论 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌法对开胃健脾丸有效成分和指纹图谱无影响, 可作为其有效灭菌手段。

关键词: 开胃健脾丸; $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线; 辐照灭菌; 白术内酯Ⅰ; 白术内酯Ⅱ; 白术内酯Ⅲ; 党参炔苷; 橙皮苷; 高效液相色谱指纹图谱; 质量控制

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)24-0025-07

Effect of $^{60}\text{Co}-\gamma$ Rays Radiation Sterilization on the Fingerprint and Effective Constituents Contents of Kaiweijianpi Pills

SHU Ting, HUANG Xiangjie

(Department of Pharmacy, Xiangxiang People's Hospital, Xiangtan, Hunan, China 411400)

Abstract: Objective To investigate the effect of $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays radiation sterilization on the contents of effective constituents and the changes of fingerprint of Kaiweijianpi Pills before and after the radiation sterilization. **Methods** The chromatographic column was Agilent Zorbax-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.5% formic acid solution with gradient elution, the detection wavelength was set at 220 nm for atractylode Ⅱ, atractylode Ⅲ and lobetyolin, 275 nm for atractylode Ⅰ, 300 nm

第一作者: 舒婷, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药品质量标准和药物分析, (电子信箱)315653310@qq.com。

[△]通信作者: 黄湘杰, 男, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药品质量标准和药物分析, (电子信箱)494784257@qq.com。

表6 正交试验设计及结果

编号	因素				成型率		堆密度		综合指标评分
	A	B	C	D	计算值(%)	得分	测得值(g/mL)	得分	
1	1	1	1	1	59.84	73.9	0.43	6.4	80.3
2	1	2	2	2	63.52	78.5	0.48	7.2	85.7
3	1	3	3	3	60.78	75.0	0.50	7.5	82.5
4	2	1	2	3	70.76	87.4	0.53	7.9	95.3
5	2	2	3	1	72.88	90.0	0.54	8.1	98.1
6	2	3	1	2	63.47	78.4	0.63	9.4	87.8
7	3	1	3	2	62.88	77.6	0.58	8.7	86.3
8	3	2	1	3	64.19	79.2	0.67	10.0	89.2
9	3	3	2	1	62.34	77.0	0.64	9.6	86.6
K ₁	82.83	87.30	85.77						
K ₂	93.73	91.00	89.20						
K ₃	87.37	85.63	88.97						
R	10.90	5.37	3.43						

表7 方差分析结果

因素	离均差平方和	自由度	均方差	F值	P
A	179.90	2	89.95	19.54	<0.05
B	45.27	2	22.64	4.92	
C	22.08	2	11.04	2.40	
D	9.21		4.60		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$, $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ 。

能型中药调配机的调配。在物料准备中, 由于阿胶珠是阿胶用蛤粉烫至成珠的炮制品, 体轻、质酥、易碎。因此能用普通粉碎机对其进行粉碎, 粉碎粒度为60目以上时, 即能满足干法制粒物料要求。另外, 在相同制粒工艺条件下, 分别用14目、16目和18目的筛网进行制粒, 16目筛网颗粒的成型率优于其他筛网目数。因此本干法制粒工艺采用16目筛网制粒。

综上所述, 优选的制粒工艺科学、合理, 可为阿胶珠配方颗粒的生产提供参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 189-190.
- [2] 周海燕, 付超美, 杨明, 等. 中药复方颗粒研制的共性技术[J]. 中医药学刊, 2006, 24(5): 812-813.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 7-8.
- [4] 岳国超, 严霞, 赵映波, 等. 湿法制粒工艺参数对颗粒成型性的影响[J]. 中南药学, 2015, 13(6): 587-590.
- [5] 田守生, 孙四海, 张淹, 等. 阿胶颗粒干法制粒工艺研究[J]. 中草药, 2014, 45(12): 1714-1717.
- [6] 曹韩韩, 杜若飞, 冯怡, 等. 干法制粒技术在中药研究中的应用进展[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2772-2776.

(收稿日期: 2019-01-18; 修回日期: 2019-05-28)

for hesperidin, the column temperature was 30 °C and the sample size was 10 µL. The HPLC fingerprint of Kaiweijianpi Pills was established, and the samples were irradiated with $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays at the dose of 0, 3, 5, 8 kGy. The contents of atractylolide I, atractylolide II, atractylolide III, lobetyolin and hesperidin were detected, and the similarity of the fingerprint was calculated. **Results** When the dose of $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays radiation was less than 8 kGy, the fingerprints and contents of atractylolide I, atractylolide II, atractylolide III, lobetyolin and hesperidin did not change significantly. **Conclusion** $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays radiation sterilization does not affect the effective constituents and fingerprint of Kaiweijianpi Pills, which can be used as an effective sterilization method for Kaiweijianpi Pills.

Key words: Kaiweijianpi Pills; $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays; radiation sterilization; atractylolide I; atractylolide II; atractylolide III; lobetyolin; hesperidin; HPLC fingerprint; quality control

开胃健脾丸由白术、党参、陈皮、茯苓、甘草、山楂等13味中药材组方,有开胃健脾功效,临床多用于治疗脾胃不和、消化不良、食欲不振、嗳气吞酸等症^[1]。方中君药白术的主要成分为白术内酯类、挥发性成分、苷类及多糖类等^[2-3];臣药党参的有效成分为党参炔苷^[4-5];2015年版《中国药典(一部)》以黄酮类的橙皮苷为陈皮的指标成分^[6-8]。开胃健脾丸收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第五册)》^[1],质量标准中仅对该制剂的性状、显微鉴别和丸项通则检查进行了规定,不能全面、准确地评价其整体质量。中药指纹图谱法能较全面地反映出其内含化学成分的种类及数量,已广泛应用于中药质量监测和评价领域^[9-11]。在开胃健脾丸的制备工艺中,大量使用到的炼蜜易受细菌微生物的污染,必须采取灭菌措施。常用灭菌方式有湿热灭菌、干热灭菌、辐射灭菌、环氧乙烷灭菌等,而 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌法作为中成药灭菌的一种新型高效方法,利用电离射线来破坏细菌中蛋白质的合成,从而达到杀菌效果,具有穿透力强、不需要添加任何化学试剂,且可在常温下进行灭菌等优点^[12-14]。本研究中为考察 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对开胃健脾丸辐照灭菌的可行性,建立了开胃健脾丸高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,考察不同辐照剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌对指纹图谱的影响,并比较制剂主要成分白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III、党参炔苷和橙皮苷的含量变化,为开胃健脾丸采用 ^{60}Co 辐照灭菌提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司,包括 G1311A 型四元梯度泵、G1329A 型自动进样器、G1314B-型二极管阵列检测器、G1316A 型柱温箱、Agilent-Chemstation 数据处理系统);AUW-220D 型电子天平(日本 Shimadzu 公司); $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照设备(深圳市金鹏源辐照技术有限公司);LRH-150B 型生化培养箱(广东省医疗器械厂);ZOZ-AB 型电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械厂);YJ-875 型医用净化工作台(苏州净化设备厂);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山超声波仪器有限公司);明澈-D24UV 型纯水/超纯水一体化系统(德国默克密理博公司)。

1.2 试药

白术内酯I对照品(批号为111975-201501,含量99.9%),白术内酯II对照品(批号为111976-201501,含量99.9%),白术内酯III对照品(批号为111978-201501,含量99.9%),党参炔苷对照品(批号为111732-201607,含量99.9%),橙皮苷对照品(批号为110721-201316,含量95.3%),均购自中国食品药品检定研究院;沙氏琼脂培养基(批号为181209),胰酪胨大豆琼脂培养基(批号为180916),pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(批号为181221),均购自北京三药科技开发公司;乙腈为色谱纯;甲醇为优级纯;水为超纯水。开胃健脾丸[李时珍医药集团有限公司,批号分别为201712012(S1)、201801132(S2)、201802192(S3)、201804152(S4)、20180562(S5)、201806162(S6)、201809112(S7)、201810232(S8)、201811162(S9)、201812142(S10)、201711122(S11)、201710232(S12)、201709082(S13)、201901162(S14),规格为每瓶60 g]。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 µm);流动相:乙腈(A)-0.5%甲酸溶液(B),梯度洗脱(见表1);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm(检测白术内酯II、白术内酯III及党参炔苷)、275 nm(检测白术内酯I)、300 nm(检测橙皮苷);柱温:30 °C;进样量:10 µL;色谱记录时间:55 min^[15-17]。

表1 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)	检测波长(nm)
0~14	22	78	300
14~30	22→49	78→51	220
30~37	49→61	51→39	275
37~41	61→75	39→25	220
41~55	75→22	25→78	

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:称取待测成分对照品各适量,精密称定,用甲醇溶液超声(功率250 W,频率40 kHz,下同)溶解,制成白术内酯I、白术内酯II、白术内酯III、党参炔苷和橙皮苷质量浓度分别为0.4335,0.3486,0.3057,0.2139,0.1422 mg/mL的混合对照品溶液;分别精密

量取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 以甲醇定容, 制得系列混合对照品溶液, 室温保存备用。

供试品溶液: 取样品及经不同辐照剂量处理的样品内容物各适量, 剪碎, 混匀, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 40 min, 放冷, 再次称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 续滤液经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 方法学考察

精密度试验: 取未经辐照的供试品溶液(S9)1份, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。结果白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、党参炔苷和橙皮苷峰面积的 *RSD* 分别为 0.35%, 0.42%, 0.57%, 0.66%, 0.48% ($n=6$)。以第 1 份指纹图谱为对照, 计算 6 份图谱相似度, 结果各图谱相似度均大于 0.98, 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 室温下取未经辐照的供试品溶液(S9), 按 2.1 项下色谱条件, 分别于 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 时进样, 记录色谱图, 以 0 h 样品指纹图谱为对照, 计算 7 份图谱的相似度, 并计算 5 种有效成分峰面积的 *RSD*。结果各图谱相似度均大于 0.99, 且白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、党参炔苷和橙皮苷峰面积的 *RSD* 分别为 0.57%, 0.65%, 0.82%, 0.79%, 1.02% ($n=7$), 表明供试品溶液室温下放置 24 h 内稳定性良好。

重复性试验: 取同未经辐照的样品(S9)6份, 依法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、党参炔苷和橙皮苷含量分别为 1.001 7, 0.643 9, 0.552 1, 0.460 4, 0.298 9 mg/g, *RSD* 分别为 0.67%, 0.59%, 1.02%, 1.01%, 0.86% ($n=6$)。以第 1 份指纹图谱为对照, 计算 6 份图谱相似度, 结果相似度均大于 0.96, 表明方法重复性良好。

线性关系考察: 精密量取系列质量浓度的混合对照品溶液 10 μ L, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以进样量(X)对峰面积(Y)进行线性回归, 得回归方程和线性范围。精密量取混合对照品溶液, 用甲醇逐步稀释, 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 取峰面积信噪比(S/N)10:1 计算定量限。结果见表 2。

表 2 5 个有效成分的线性范围和定量限

待测成分	回归方程	r	线性范围(μ g)	定量限 (ng)
白术内酯 I	$Y=48.55X+1.0952$	0.999 8	0.043 4~0.433 5	0.11
白术内酯 II	$Y=52.71X-5.9611$	0.999 6	0.034 9~0.348 6	0.24
白术内酯 III	$Y=18.75X+11.2460$	0.999 2	0.030 6~0.305 7	0.35
党参炔苷	$Y=38.03X-6.7164$	0.999 5	0.021 4~0.213 9	0.18
橙皮苷	$Y=22.76X+1.1587$	0.999 4	0.014 2~0.142 2	0.15

加样回收试验: 取样品(S9)6份, 每份 1.0 g, 精密称定, 精密加入各待测成分对照溶液 2.0 mL, 依法制备供试品溶液, 再按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图并计算加样回收率。结果见表 3。

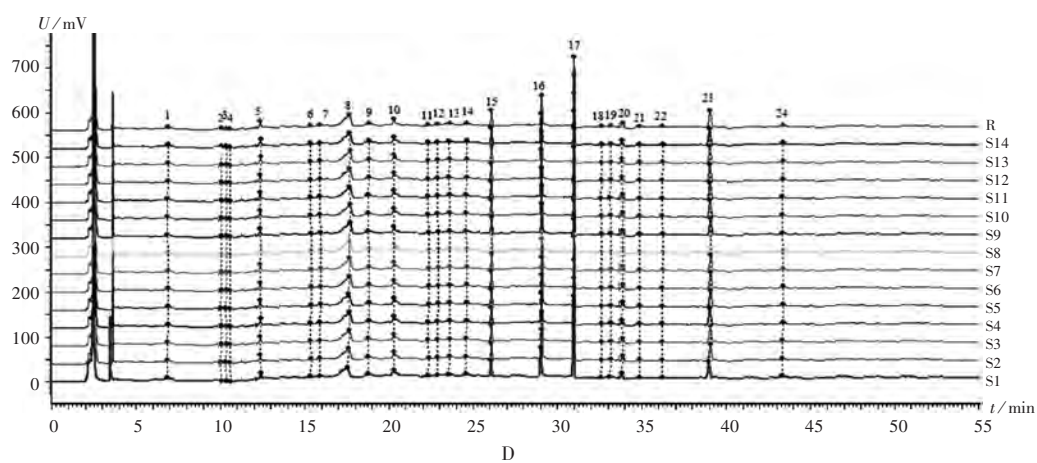
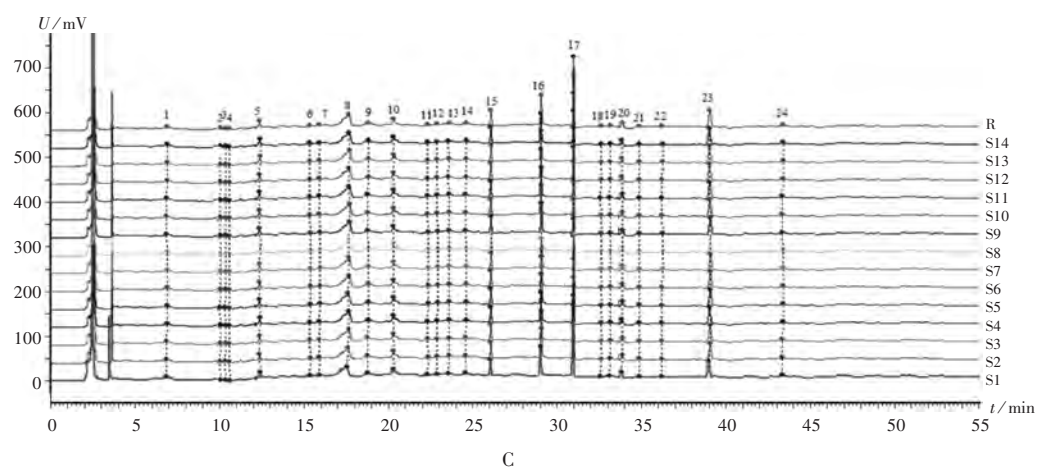
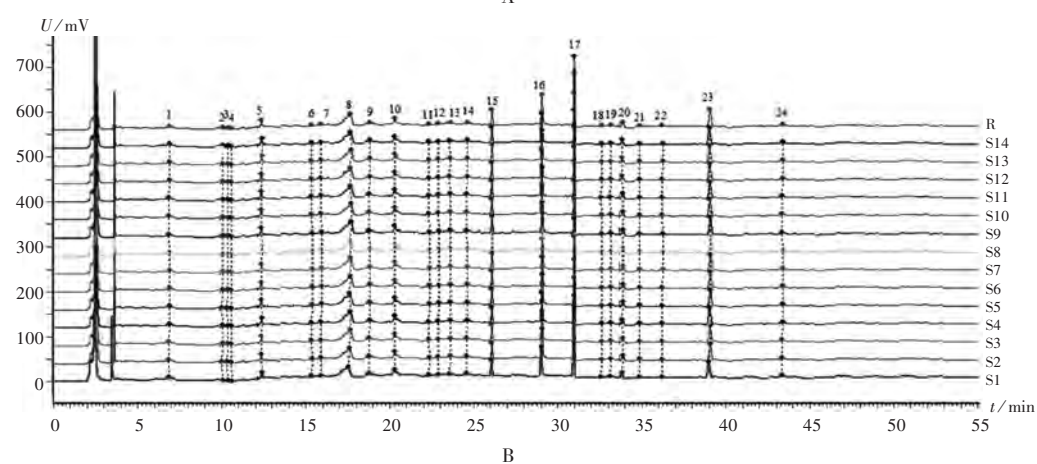
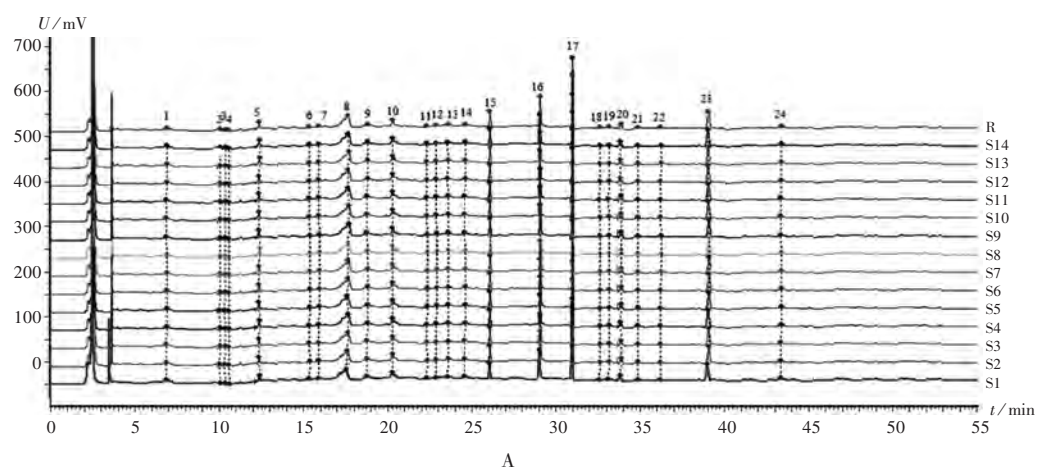
表 3 开胃健脾丸 5 个成分的加样回收试验结果($n=6$)

成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	<i>RSD</i> (%)
白术内酯 I	1.009 9	0.867 1	1.875 5	99.83	100.90	0.89
	1.007 2	0.867 1	1.873 6	99.92		
	1.115 0	0.867 1	1.995 9	101.59		
	1.127 3	0.867 1	2.010 7	101.88		
	0.907 7	0.867 1	1.780 4	100.65		
	0.905 8	0.867 1	1.786 2	101.53		
白术内酯 II	0.649 2	0.697 2	1.339 3	98.98	99.80	0.89
	0.647 4	0.697 2	1.351 7	101.02		
	0.716 7	0.697 2	1.405 3	98.77		
	0.724 6	0.697 2	1.421 0	99.89		
	0.583 5	0.697 2	1.277 4	99.53		
	0.582 3	0.697 2	1.283 8	100.62		
白术内酯 III	0.556 6	0.611 4	1.159 9	98.68	98.97	0.58
	0.555 1	0.611 4	1.162 0	99.26		
	0.614 5	0.611 4	1.224 9	99.84		
	0.621 3	0.611 4	1.226 6	99.00		
	0.500 3	0.611 4	1.100 2	98.12		
	0.499 3	0.611 4	1.104 2	98.94		
党参炔苷	0.464 2	0.427 8	0.890 2	99.58	99.58	0.69
	0.462 9	0.427 8	0.887 2	99.18		
	0.512 5	0.427 8	0.935 9	98.97		
	0.518 1	0.427 8	0.941 9	99.06		
	0.417 2	0.427 8	0.848 3	100.77		
	0.416 3	0.427 8	0.843 9	99.95		
橙皮苷	0.301 4	0.284 4	0.585 6	99.93	99.47	0.56
	0.300 5	0.284 4	0.585 9	100.35		
	0.332 7	0.284 4	0.614 2	98.98		
	0.336 4	0.284 4	0.618 0	99.02		
	0.270 3	0.284 4	0.552 2	99.12		
	0.270 3	0.284 4	0.553 0	99.40		

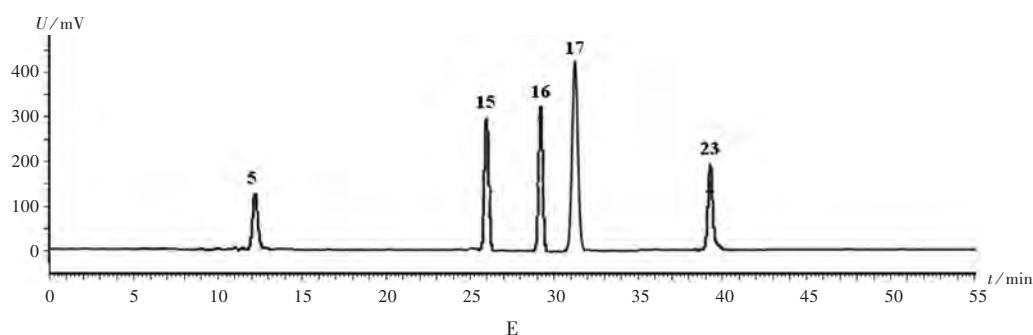
2.4 指纹图谱建立及部分共有峰指认

取 14 批经 0, 3, 5, 8 kGy 剂量辐照处理的样品适量, 依法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。将指纹图谱导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 A 版)软件, 设置时间窗为 0.2 min, 采用中位矢量法多点校正, 分别生成各对照指纹图谱。详见图 1。

指纹图谱中, 14 批供试品均检测到 24 个共有峰, 通过与对照品比对, 可确认 5 号峰为橙皮苷(12.215 min), 15 号峰为白术内酯 III(26.005 min), 16 号峰为白术内酯 II(29.011 min), 17 峰为白术内酯 I(30.946 min), 23 号峰为党参炔苷(39.107 min)。



D



5. 橙皮苷 15. 白术内酯Ⅲ 16. 白术内酯Ⅱ 17. 白术内酯Ⅰ 23. 党参炔苷
A-D. 供试品溶液(辐照剂量 0,3,5,8 kGy) E. 对照品溶液

图1 开胃健脾丸高效液相色谱指纹图谱

取供试品指纹图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 A 版)软件,以未辐照(0 kGy)样品图谱为参照,经多点校正,全谱段峰匹配,生成对照图谱,计算各批不同辐照剂量与对照指纹图谱的相似度。结果见表4。可见,辐照前后各批次指纹图谱与对照指纹图谱相似度均大于0.90,相似度良好。

表4 指纹图谱相似度计算结果

样品编号	0 kGy	3 kGy	5 kGy	8 kGy
S1	0.999 8	0.999 6	0.977 4	0.900 5
S2	0.999 9	0.999 7	0.978 9	0.900 9
S3	0.999 8	0.999 3	0.979 3	0.900 8
S4	1.000 0	0.999 9	0.977 9	0.900 4
S5	0.999 8	0.999 8	0.979 7	0.900 5
S6	0.999 9	0.999 7	0.978 9	0.900 3
S7	0.999 9	0.999 4	0.979 4	0.900 2
S8	0.999 8	0.999 5	0.979 3	0.900 5
S9	0.999 8	0.999 5	0.976 6	0.900 7
S10	0.999 9	0.999 6	0.979 6	0.900 3
S11	0.999 9	0.999 3	0.979 0	0.900 9
S12	1.000 0	0.999 6	0.979 0	0.900 8
S13	0.999 8	0.999 2	0.978 9	0.900 7
S14	0.999 9	0.999 7	0.978 5	0.900 8
$\bar{X} \pm s$	0.999 9±0.000 1	0.999 6±0.000 2	0.978 7±0.000 9	0.900 6±0.000 2

2.5 样品含量测定

取样品及 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射灭菌样品各适量,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件测定样品中白术内酯Ⅰ、白术内酯Ⅱ、白术内酯Ⅲ、党参炔苷和橙皮苷含量,利用SPSS 19.0统计学软件对灭菌前后的含量进行配对 t 检验,考察0,3,5,8 kGy辐照剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射灭菌对各化合物含量的影响。结果见表5。

2.6 含菌量测定

分别取辐照前后的样品,参照2015年版《中国药典(四部)》“非无菌产品微生物限度检查:微生物计数法”^[18]进行需氧菌总数以及霉菌和酵母菌总数考察。分别加pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至100 mL,浸泡分散,

充分振摇,按10倍培养基稀释法检查制成1:10、1:100、1:1 000的待测液,依法测定需氧菌总数以及霉菌和酵母菌总数。测定结果见表6。

3 讨论

3.1 灭菌效果检查

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌处理后,需氧菌以及霉菌和

表5 开胃健脾丸5个成分含量测定结果(mg/g)

待测成分	编号	0 kGy	3 kGy	5 kGy	8 kGy
白术内酯Ⅰ	S1	1.002 9	1.001 9	1.000 9	0.990 7
	S2	1.002 3	1.002 0	1.001 2	0.992 3
	S3	1.003 5	1.002 8	1.002 1	0.992 9
	S4	1.001 4	1.000 8	1.000 1	0.990 1
	S5	1.003 2	1.002 7	1.001 9	0.991 5
	S6	1.003 9	1.003 1	1.002 7	0.993 3
	S7	1.001 0	1.000 5	1.000 1	0.989 3
	S8	1.000 2	0.999 6	0.999 1	0.988 2
	S9	1.001 7	1.001 1	1.000 5	0.991 6
	S10	1.000 1	0.999 5	0.998 9	0.991 1
	S11	1.000 5	1.000 1	0.999 3	0.993 5
	S12	1.002 6	1.001 7	1.000 8	0.992 6
	S13	1.000 6	1.000 1	0.999 4	0.988 7
	S14	1.000 0	0.999 2	0.998 7	0.988 1
$\bar{X} \pm s$		1.001 1±0.000 3	1.000 4±0.000 3	0.990 9±0.001 8	
白术内酯Ⅱ	S1	0.644 6	0.644 1	0.643 6	0.641 7
	S2	0.645 8	0.645 2	0.644 6	0.641 5
	S3	0.644 9	0.644 3	0.642 9	0.640 3
	S4	0.643 2	0.642 7	0.642 0	0.640 0
	S5	0.646 7	0.645 9	0.645 2	0.641 9
	S6	0.647 7	0.647 0	0.646 4	0.642 2
	S7	0.641 1	0.640 4	0.640 0	0.641 1
	S8	0.642 3	0.643 1	0.642 3	0.641 4
	S9	0.643 9	0.643 1	0.642 2	0.640 9
	S10	0.643 3	0.642 7	0.642 0	0.640 5
	S11	0.641 9	0.641 0	0.640 4	0.641 2
	S12	0.648 1	0.647 4	0.646 8	0.641 8
	S13	0.641 4	0.640 9	0.640 1	0.640 3
	S14	0.642 0	0.641 2	0.640 3	0.640 2
$\bar{X} \pm s$		0.643 5±0.000 6	0.642 8±0.000 5	0.641 1±0.000 2	

续表5 开胃健脾丸5个成分含量测定结果(mg/g)

待测成分	编号	0 kGy	3 kGy	5 kGy	8 kGy
白术内酯Ⅲ	S1	0.552 9	0.552 5	0.555 0	0.541 9
	S2	0.553 3	0.552 8	0.552 1	0.540 9
	S3	0.553 1	0.552 4	0.552 0	0.540 1
	S4	0.552 7	0.552 1	0.551 8	0.540 5
	S5	0.552 6	0.552 0	0.551 2	0.540 2
	S6	0.553 7	0.553 1	0.552 5	0.541 3
	S7	0.553 9	0.553 5	0.552 8	0.541 1
	S8	0.551 8	0.551 2	0.550 6	0.540 3
	S9	0.552 1	0.551 6	0.550 9	0.540 5
	S10	0.551 9	0.551 3	0.550 4	0.540 0
	S11	0.551 1	0.550 6	0.550 0	0.540 4
	S12	0.553 4	0.553 0	0.552 3	0.541 6
	S13	0.552 4	0.551 8	0.551 2	0.540 7
	S14	0.550 8	0.550 1	0.549 6	0.549 9
$\bar{X} \pm s$		0.552 0 ± 0.000 3 0.551 6 ± 0.000 4 0.540 7 ± 0.000 2			
党参炔苷	S1	0.460 9	0.460 4	0.450 0	0.449 7
	S2	0.460 6	0.460 1	0.459 4	0.449 5
	S3	0.461 2	0.460 8	0.460 2	0.440 3
	S4	0.461 8	0.461 4	0.461 0	0.440 9
	S5	0.460 1	0.459 7	0.459 3	0.449 1
	S6	0.460 2	0.459 6	0.459 1	0.449 2
	S7	0.460 0	0.459 4	0.459 0	0.449 0
	S8	0.462 1	0.461 6	0.461 1	0.449 6
	S9	0.460 4	0.460 0	0.459 6	0.449 8
	S10	0.462 0	0.461 3	0.460 9	0.440 0
	S11	0.461 9	0.461 5	0.460 8	0.440 1
	S12	0.460 7	0.460 2	0.459 8	0.449 3
	S13	0.460 5	0.460 1	0.459 6	0.449 4
	S14	0.461 5	0.461 0	0.460 3	0.440 3
$\bar{X} \pm s$		0.460 5 ± 0.000 2 0.459 3 ± 0.000 7 0.449 7 ± 0.001 4			
橙皮苷	S1	0.298 7	0.298 2	0.297 7	0.291 4
	S2	0.299 2	0.298 9	0.298 1	0.291 7
	S3	0.299 6	0.299 1	0.298 8	0.299 9
	S4	0.299 7	0.299 3	0.298 6	0.292 0
	S5	0.298 1	0.297 6	0.297 1	0.291 2
	S6	0.298 6	0.298 1	0.297 6	0.291 3
	S7	0.298 3	0.298 0	0.297 2	0.291 0
	S8	0.299 5	0.299 0	0.298 3	0.291 6
	S9	0.298 9	0.298 3	0.297 8	0.291 1
	S10	0.299 9	0.299 4	0.298 7	0.291 5
	S11	0.298 0	0.297 5	0.297 0	0.290 5
	S12	0.299 4	0.299 1	0.298 6	0.291 8
	S13	0.299 0	0.298 4	0.298 0	0.290 9
	S14	0.298 1	0.297 9	0.297 4	0.292 1
$\bar{X} \pm s$		0.298 5 ± 0.000 1 0.297 9 ± 0.000 2 0.291 4 ± 0.000 5			

酵母菌总数均大幅减少,且随着辐照剂量的增加,样品的含菌量显著减少,表明 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照能有效除去

表6 样品辐照前后含菌量测定结果

辐照剂量 (kGy)	需氧菌总数(TAMC)			霉菌和酵母菌总数(TYMC)		
	辐照前 (cfu/g)	辐照后 (cfu/g)	成活率 (%)	辐照前 (cfu/g)	辐照后 (cfu/g)	成活率 (%)
3	171 000	401	0.23	157	28	17.83
5	142 000	89	0.06	107	9	8.41
8	102 000	1	<0.01	79	0	<0.01

开胃健脾丸中的微生物。

3.2 辐照剂量选择

根据卫生部颁布的《 ^{60}Co 辐照中药灭菌剂量标准》的规定,中药的辐照剂量应水平 10 kGy。本研究中分别采用 3,5,8 kGy 剂量进行辐照,考察其对指纹图谱和指标成分的影响,并确定最佳灭菌处理参数。开胃健脾丸经不同剂量 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐射处理后,0,3,5 kGy 辐照处理过的供试品指纹图谱相似度均大于 0.95,而辐照剂量为 8 kGy 时,相似度平均值为 0.900 6(小于 0.95),表明虽然指纹图谱共有峰数量没有变化,但与未经辐照的供试品比较,相似度已有所下降。辐照前后开胃健脾丸中 5 个成分含量无显著性变化($P > 0.05$),故从含量和共有峰数量方面可以看出,辐照灭菌对开胃健脾丸无影响。

3.3 方法的价值

本研究中建立了开胃健脾丸指纹图谱和 5 个成分含量测定方法,具有良好的精密度、准确性及线性关系,辐照前后指纹图谱相似度好,主要色谱峰未损失,通过验证确定,当辐照剂量为 8 kGy 时,能有效控制微生物限度,该结论可为开胃健脾丸辐照灭菌提供参考。

参考文献:

- [1] WS₃-B-0902-91,卫生部药品标准·中药成方制剂(第五册)[S].
- [2] 邹辉,杨 柳,易美玲,等. 白术化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(17):43-48
- [3] 费乐学. 加味参苓白术散对神经内科重症患者肠内营养相关并发症的治疗作用[J]. 中国药业,2016,25(13):54-56.
- [4] 孙政华,邵 晶,郭 玫. 党参化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,43(33):174-176
- [5] 赵晓梅. 分析补益药党参的药理和临床应用[J]. 中国实用医药,2016,11(32):135-136
- [6] 邱蓉丽,吴玉兰,乐 巍. 陈皮、青皮中 4 种黄酮成分的比较研究[J]. 中成药,2015,37(1):149-153.
- [7] 王 福,张 鑫,卢俊宇,等. 陈皮“陈久者良”之黄酮类成分增加原因探究[J]. 中国中药杂志,2015,40(24):4890-4896.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:191.
- [9] 陈庆贤,陈考坛,李定富,等. 基于指纹图谱分析和多成分同时定量的正天丸质量评价研究[J]. 中国药师,2018,21(5):805-809.