

^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对中药黄芩和南星有效成分的影响

徐光临 刘瑾 刘力 徐德生

【摘要】 目的 考察 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌效果及对中药黄芩和南星有效成分的影响。**方法** 选择 5、10、15、20、25 kGy 5 个辐照剂量对黄芩和南星饮片进行辐照。分别比较辐照前后饮片的细菌、霉菌和酵母菌总数及有效成分黄芩苷和总黄酮的含量。**结果** 两味中药在经过 5 kGy 的辐照后,都能达到卫生学标准要求;经过 25 kGy 的辐照后,二者所含有效成分均无显著变化。**结论** ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌效果理想,且 25 kGy 辐照对黄芩和南星有效成分无影响。

【关键词】 ^{60}Co - γ 射线; 辐照灭菌; 黄芩; 南星; 有效成分

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.08.008

Effects of ^{60}Co - γ irradiation on sterilization and effective ingredients of Scutellariae Radix and Arisaematis Rhizoma XU Guanglin, LIU Jin, LIU Li, et al. Shuguang hospital Affiliated with Shanghai university of TCM, Shanghai 200021, China

Corresponding author: LIU Li, E-mail: liuli2750@163.com

【Abstract】 Objective To discover the effect of ^{60}Co - γ ray irradiation on sterilization and effective components of Scutellariae Radix and Arisaematis Rhizoma. **Methods** 5 kGy, 10 kGy, 15 kGy, 20 kGy, 25 kGy five kinds of dosage were selected to irradiate the decoction pieces of Scutellariae Radix and Arisaematis Rhizoma. The total amount of the bacteria, mould and yeast was compared before and after irradiation, and the contents of effective components were compared. **Results** Drugs could reach the requirements of hygiene standard after 5 kGy of radiation, and the effective components of Scutellariae Radix and Arisaematis Rhizoma had no changes after 25 kGy of radiation. **Conclusion** The sterilization effect of ^{60}Co - γ ray irradiation is good, and the effective component of Scutellariae Radix and Arisaematis Rhizoma have no changes after 25 kGy of radiation.

【Key words】 ^{60}Co - γ ray; Irradiation sterilization; Scutellariae Radix; Arisaematis Rhizoma; Effective component

原药粉是中药制剂中常见的制备方法,由于中药材含有大量的有机质,在其生长、储藏、加工过程中易受各种微生物的污染,故原药粉入药直接影响成品制剂的微生物限度。传统的灭菌方

法^[1-2]是以干热灭菌、湿热灭菌、辐射灭菌和环氧乙烷气体灭菌为主,虽然近几十年来也出现了乙醇气体灭菌^[3-5]、微波灭菌、高压脉冲电场灭菌、低温等离子体灭菌、常温瞬时超高压灭菌等多种新方法^[2],但大多还处于实验室研究、小试或中试阶段,尚未广泛应用于工业化生产,中药的灭菌方法仍以传统灭菌方法为主。 ^{60}Co 辐照灭菌是一种常温灭菌法,辐照过程几乎不升温,时间仅需几秒钟,因此适用于含挥发性成分、热敏性成分,一些含糖分高、易霉变的中药材及蜜丸的灭菌^[6],较广泛地应用于中药材及其制剂的灭菌。但辐照灭菌可能会引起个别中药的化学成分如蒽醌类成分的氧化^[7],三七粉超过 13 kGy 剂量辐射,三七皂苷

基金项目:上海市科委中药现代化专项(12401901401);2013 年国家临床重点专科(中医专业)临床药学建设项目(财社[2013]239 号)

作者单位:200021 上海中医药大学附属曙光医院药剂科[徐光临(博士研究生)、刘瑾、刘力、徐德生]

作者简介:徐光临(1981-),2014 级在读博士研究生。研究方向:中药活性成分和质量标准研究。E-mail: xgl81625@163.com

通信作者:刘力(1961-),女,硕士,主任药师。研究方向:中药新药与新剂型研究。E-mail: liuli2750@163.com

R_1 和人参皂苷 R_{g1} 含量明显降低^[8]。所以辐照对药材的化学成分的影响与否是药材能否采用辐照灭菌方法的重要依据。

黄芩、南星为上海中医药大学附属曙光医院药剂科院内制剂中常用的以药材原粉入药的药材,属于可辐照的品种,有文献报道,黄芩辐照剂量增加到 10 kGy,有效成分黄芩苷含量也不会变化^[9],2015 版药典规定辐射灭菌的常用吸收剂量为 25 kGy^[10],但截至目前还尚未有 25 kGy 辐照对黄芩、南星中有效成分含量是否影响的报道。本文就⁶⁰Co- γ 射线辐照对上述两种药材的微生物限度及有效成分的影响进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

高效液相色谱仪 Agilent1200 及其配套工作站, VWD 检测器(美国 Agilent 公司);紫外可见分光光度计 UV-2450(日本岛津公司);黄芩苷(批号:201117)、芹菜素(批号:201102),含量测定用,均为中国药品生物制品检定所提供;黄芩、制南星饮片购自上海华宇药业有限公司,经其质量管理部检验符合 10 版药典及 08 版《上海市中药饮片炮制规范》要求。玫瑰红钠琼脂(国药集团化学试剂有限公司);营养琼脂(国药集团化学试剂有限公司);0.9% 氯化钠注射液(华裕(无锡)制药有限公司);甲醇(HPLC 级,上海安谱科学仪器有限公司),乙醇(AR,国药集团化学试剂有限公司),水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 辐照剂量选择 辐照剂量设为 5、10、15、20、25 kGy 五个剂量组和 0 kGy 一个对照组。

1.2.2 药材处理 黄芩、制南星饮片粉碎,过 80 目筛,分别装于自封袋中,五个剂量组每组各 3 袋,每袋 20 g,密封,送与中科院上海辐照中心辐照灭菌。

1.2.3 微生物限度测定^[10] 检查辐照前后的细菌活菌总数、霉菌和酵母菌活菌总数。以辐照第 2 天进行试验,取供试品 10 g,加 pH 7.0 的 NaCl 蛋白胨缓冲液 100 mL,匀浆 2 分钟,即得 1:10 的稀释液,按 10 倍递增稀释,得 1:10²,1:10³ 稀释液,备检。分别取 3 个稀释级供试液 1.0 mL,置直径 9 cm 的平皿中,再注入熔化并冷却至 45~50℃ 的营养琼脂培养基和玫瑰红钠琼脂培养基各约 15 mL,转动平皿使充分混匀,待凝固后,倒置,置 32℃ 和 25℃ 恒温

箱内分别培养 72 小时,120 小时计算菌落数。每稀释级作 3 个平皿。

1.2.4 黄芩中黄芩苷含量测定^[11] 色谱条件:(1)色谱柱:Dimasil C₁₈(4.6×200 mm,5 μ m);流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2);检测波长为 280 nm。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 2500。(2)对照品溶液:取在 60℃ 减压干燥 4 小时的黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 6 μ g 的溶液,即得。(3)供试品溶液的制备:取本品中粉约 0.3 g,精密称定,加 70% 乙醇 40 mL,加热回流 3 小时,放冷,滤过,滤液置 100 mL 量瓶中,用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。(4)含量测定:分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪,以外标法计算样品中黄芩苷的含量。

1.2.5 制南星总黄酮含量测定^[11] (1)对照品溶液的制备:取芹菜素对照品适量,精密称定,加 60% 乙醇制成每 1 mL 含 12 μ g 的溶液,即得。(2)标准曲线的制备:精密量取对照品溶液 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 分别置 10 mL 量瓶中,各加 60% 乙醇至 5 mL,加 1% 三乙胺溶液至刻度,摇匀,以相应的试剂为空白,照紫外-可见分光光度法在 400 nm 的波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。(3)测定法:取本品粉末(过四号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)45 分钟,放冷,再称定重量,用 60% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,照标准曲线的制备项下的方法,自“加 1% 三乙胺溶液”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中含芹菜素的重量,计算,即得。

1.3 统计学处理

以 SPSS 20.0 进行数据计算处理。两组间比较采用成组计量资料 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 微生物限度情况

结果显示 5、10、15、20、25 kGy 辐照后黄芩、制南星中细菌、霉菌和酵母菌活菌数均小于 10,表明经过 5 kGy 的辐照,药材就能达到卫生学标准要求。

详见表 1。

表 1 经过 5 kGy 辐照前后药材含菌量测定结果

药材	辐照剂量 (kGy)	细菌 (cfu/g)		霉菌和酵母菌 (cfu/g)	
		活菌数	限度	活菌数	限度
黄芩	0	4770		27	
	5	<10		<10	
	10	<10	<10000	<10	<100
	15	<10		<10	
	20	<10		<10	
	25	<10		<10	
制南星	0	623000		100	
	5	<10		<10	
	10	<10	<10000	<10	<100
	15	<10		<10	
	20	<10		<10	
	25	<10		<10	

注：限度指 15 版药典中非无菌含药材原粉的中药口服给药制剂的微生物限度标准。

2.2 黄芩中黄芩苷含量

结果显示 5、10、15、20、25 kGy 辐照后黄芩中黄芩苷含量与辐照前无显著性差异,表明 25 kGy 辐照对其无影响。详见表 2。

表 2 辐照前后黄芩苷含量测定结果 (%)

含量	0 kGy	5 kGy	10 kGy	15 kGy	20 kGy	25 kGy
黄芩苷	13.64	13.84	13.88	13.68	13.81	13.54
变化值	0.00	+1.47	+1.76	+0.29	+1.25	-0.73

注：“+”表示与 0 kGy 相比含量升高,“-”表示与 0 kGy 相比含量降低。

2.3 制南星总黄酮含量

结果显示 5、10、15、20、25 kGy 辐照后制南星总黄酮含量与辐照前无显著性差异,表明 25 kGy 辐照对其无影响。详见表 3。

表 3 辐照前后制南星中总黄酮含量测定结果 (%)

含量	0 kGy	5 kGy	10 kGy	15 kGy	20 kGy	25 kGy
总黄酮	0.0502	0.0500	0.0500	0.0500	0.0498	0.0494
变化值	0.0000	-0.4000	-0.4000	-0.4000	-0.8000	-1.5900

注：“+”表示与 0 kGy 相比含量升高,“-”表示与 0 kGy 相比含量降低。

3 讨论

辐射灭菌主要是由⁶⁰Co 和¹³⁷Cs 辐射源所产生的 γ 射线,是一种电磁波。目前用于药品辐射的 γ 射线不超过 1.25 兆电子伏特,远低于对中药材的基

本元素 C、H、O、N 等产生感生放射性所需的最低射线能量 10 MeV,故不会使药品产生感生放射性,不存在放射性污染^[12-13]。γ 射线穿透力强,一般可达 40 ~ 60 cm,药品可在包装完好情况下灭菌,能有效防止成品的二次污染,可在灭菌后较长时间保持无菌而不受污染。药品包装材料可以是玻璃,也可以是无毒塑料。塑料品种使用较广泛的有聚乙烯、聚乙烯醇、聚偏二氯乙烯、聚酰胺复合膜等,其中以聚乙烯醇为佳^[2]。

辐照灭菌可能会引起中药化学成分的变化,而且这种变化与含水量有关,含水量越高,有效成分的辐解也愈大^[14];此外还有报道^[7]辐照灭菌还可能引起生物活性的变化:秦艽用 10 kGy 剂量辐射后,其镇痛、降压等药理作用未发生变化,但其抗炎作用基本消失,而当辐射剂量降至 5 kGy 时,其抗炎作用无明显改变;板蓝根用 20 kGy 以上的剂量辐照可失去抗内毒素的作用,而 10 kGy 以下的剂量无明显影响。

黄芩和制南星饮片经 5 个剂量⁶⁰Co 辐照后,其有效成分黄芩苷和总黄酮含量较辐照前未见明显变化,所以黄芩和制南星及以黄芩苷和总黄酮为活性成分的制剂可采用此方法进行灭菌。黄芩和制南星饮片经过 5 kGy 的辐照,即能达到卫生学标准要求,虽然在 25 kGy 的辐照下主要成分含量仍基本保持不变,但最佳辐照剂量还是应根据二者入药的具体剂型,及辐照均匀度来确定,在满足卫生学标准的前提下,剂量越低越好,这与 2015 年国家食品药品监督管理局发布的《中药辐照灭菌技术指导原则(征求意见稿)》中“建议尽可能采用低剂量辐照灭菌”的原则相一致。

对于辐照剂量问题,卫生部卫药发[1997]第 38 号文:关于发布《辐照中药灭菌剂量标准》(内部试行)的通知中规定了中药辐照灭菌时最大吸收剂量应不大于下列数值:散剂:3 kGy;片剂:3 kGy;丸剂:5 kGy;中药原料粉:6 kGy。最新《中药辐照灭菌技术指导原则(征求意见稿)》指出中药辐照剂量原则上不超过 10 kGy;2015 版中国药典灭菌法中辐射灭菌的常用吸收剂量为 25 kGy。三者的辐照剂量差别较大,如何选择辐照剂量是现今亟待解决的问题,而实际生产中样品的厚度往往是影响灭菌效果的关键,可以在国家指导原则指导下,结合具体品种进行考察,如剂量确需在 10 ~ 25 kGy 时,可以进行致畸、致癌、致突变的特殊毒性检查,以确保灭菌

的安全性。

参 考 文 献

- [1] 马方励. 常用灭菌技术及其对中药制剂质量的影响[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(12): 2640-2642.
- [2] 冯少俊, 伍振峰, 王雅琪, 等. 中药灭菌工艺研究现状及问题分析[J]. 中草药, 2015, 46(18): 2667-2673.
- [3] 焦安英. 乙醇气体中药杀菌器在中药材灭菌中的应用[J]. 医药工程设计杂志, 2004, 25(2): 17-18.
- [4] 杨金华, 施钧瀚. 乙醇气体灭菌法在我院中药制剂中的应用[J]. 中医研究, 2011, 24(1): 28.
- [5] 王丽萍, 杨金华, 陈天朝. 乙醇蒸气灭菌中药饮片的方法探讨[J]. 中国药房, 2012, 23(35): 3308-3309.
- [6] 杨振俊, 赵琳, 赵焕君, 等. 辐照灭菌对菊花中氯原酸含量的影响[J]. 中国医学工程, 2012, 20(8): 125.
- [7] 王锦燕. ^{60}Co -辐照灭菌在中药及其制剂中的应用[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 59-61.
- [8] 金辉, 王保忠, 刘智斌. 辐射对云南特色中药的灭菌效果及品质影响研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(22): 1700-1703.
- [9] 孙建宇, 陈红梅, 李兆奎, 等. ^{60}Co - γ 射线辐照对赤芍和黄芩有效成分的影响[J]. 中国药师, 2007, 10(8): 777-778.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 142-143, 150, 180.
- [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, 2015: 57-58, 301.
- [12] 张昭文. ^{60}Co 辐照灭菌的最佳剂量及堆药物制剂质量和药效的影响[J]. 中国药房, 1998, 9(2): 87.
- [13] 钟海洛, 董昱, 董玉宁, 等. 应用 ^{60}Co - γ 射线辐照保存川产道地中药材的研究[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(9): 520-523.
- [14] 王二兵, 赵正保, 曲婷丽. 辐照灭菌对止嗽立效口服液主要成分的影响[J]. 中成药, 2013, 35(9): 2056-2058.

(收稿日期: 2016-11-05)

(本文编辑: 王馨瑶)