

HQ841 水凝胶树脂粉微生物限度检查方法验证

戚继红, 岳莉, 沈伟(安徽省淮北市食品药品检验所, 安徽 淮北 235000)

摘要: 目的 建立 HQ841 水凝胶树脂粉微生物限度检查法, 并对方法进行验证。方法 将供试品配制为 1:20 的溶液, 按常规法进行细菌数、霉菌和酵母菌数检查及控制菌(铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌)的检查。结果 在 3 次独立的平行试验中, 细菌数、霉菌和酵母菌数检查方法的验证试验, 5 株试验菌回收率均>70%; 控制菌测定中, 检查铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌, 试验组均可检出试验菌。结论 采用常规法进行 HQ841 水凝胶树脂粉细菌数、霉菌和酵母菌计数及控制菌检查, 方法有效可行。

关键词: HQ841 水凝胶树脂粉; 微生物限度检查法; 方法学验证

中图分类号: R927.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)11-1226-03

Validation of Microbial Limit Method of HQ841 Hydrogel Resin Powder

QI Jihong, YUE Li, SHEN Wei(Huaibei Institute for Food and Drug Control of Anhui Province, Huaibei 235000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the microbial limit test of HQ841 hydrogel resin powder. **METHODS** The sample preparation of 1:20 solution, bacteria, yeast and mold counts the number of inspection and control bacteria by conventional method (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) examination. **RESULTS** In the parallel test of 3 independent, verification test bacteria, yeast and mold count number check method, 5 strains of tested bacteria recovery rate was >70%. The control bacteria examination determination, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, the test group were detected bacteria, negative group are sterile growth, Gram-negative bacteria in the control group had no growth. **CONCLUSION** The method can be used in microbial limit test of HQ841 hydrogel resin powder.

KEY WORDS: HQ841 hydrogel resin powder; microbial limit test; validation of method

HQ841 水凝胶树脂粉为安徽淮北汇强高分子材料有限公司研制生产的新型高分子材料, 该产品已被应用于医疗材料水凝胶巴布剂、退热贴以及水凝胶凉垫、床垫等产品的加工制造上。本试验对 HQ841 水凝胶树脂粉进行溶解稀释, 建立该制剂微生物限度检查的方法, 并进行验证。

1 仪器与材料

1.1 仪器设备

YP202N 电子天平(上精科仪器有限公司); SPX-150 生化培养箱(扬州慧科电子有限公司); BG-270 隔水式电热培养箱(上海博迅实业公司); EH-20B 微控数显电热板(美国莱伯泰科公司); B101200-II-A1 生物安全柜(上海振梓创空气净化设备有限公司); RTAC-2 全自动菌落计数器(合肥瑞韬电子科技有限公司); YQL-LS-50S II 立式压力蒸气灭菌器、HM-3000C 红外接种环灭菌器均购自金坛市盛蓝仪器制造有限公司; SKG-02B 电热恒温干燥箱(湖北黄石恒丰医疗器械有限公司)。

1.2 培养基、稀释剂及试液

营养琼脂培养基(批号: 110124); 玫瑰红钠培养基(批号: 130106); 改良马丁培养基(批号: 120502); 营养肉汤培养基(批号: 120105); 胆盐乳糖增菌液(批号: 101130); 甘露醇氯化钠琼脂培养基(批号: 120602); 溴代十六烷基三甲胺培养基(批号: 130105); pH 7.0 氯化钠蛋白胨缓冲液(批号: 1211251); 0.9%氯化钠溶液自制; 靛基质试液自配, 所用试剂均为分析纯。

以上培养基均由北京三药科技开发公司生产, 经适用性检查符合规定。

1.3 供试品

HQ841 水凝胶树脂粉, 由淮北汇强高分子材料有限公司提供, 批号: 20121210, 20130120, 20130226。

1.4 试验菌

大肠埃希菌(*Escherichia coli*)[CMCC(B)44102]; 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)

[CMCC(B)26003]; 枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*) [CMCC(B)63501]; 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) [CMCC(B)10104]; 白色念珠菌(*Candida albicans*) [CMCC(F)98001]; 黑曲霉 (*Aspergillus niger*) [CMCC(F)98003], 均由中国食品药品检定研究院提供。

2 方法和结果

按中国药典 2010 年版二部附录 XI J 微生物限度检查法^[1-2]。

2.1 菌液的制备

取经 35℃ 培养 18~24 h 的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽胞杆菌、铜绿假单胞菌培养物, 用 0.9% 无菌氯化钠溶液按 10 递增稀释至每 1 mL 含菌数 50~100 cfu 的菌悬液, 备用。

取经 25℃ 培养 18~24 h 的白色念珠菌培养物, 用 0.9% 无菌氯化钠溶液按 10 递增稀释至每 1 mL 含菌数 50~100 cfu 的菌悬液, 备用。

取经 25℃ 培养 1 周的黑曲霉培养物, 加入 4 mL 含 0.05% 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液, 将孢子洗脱, 然后用无菌纱布过滤除去菌丝, 用 0.05% 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液按 10 递增稀释至每 1 mL 含孢子数 50~100 cfu 的孢子悬液, 备用。

2.2 试验用菌液检验

取上述大肠埃希菌 10⁻⁸ 稀释级、金黄色葡萄球菌 10⁻⁸ 稀释级、枯草芽胞杆菌 10⁻⁷ 稀释级、铜绿假单胞菌 10⁻⁸ 稀释级的稀释液各 1 mL, 分别用 45℃ 营养琼脂培养基 20 mL 注皿, 各平行测定 2 皿, 35℃ 培养 48 h, 计数, 均为 50~100 cfu·mL⁻¹。

取上述白色念珠菌 10⁻⁷ 稀释级的稀释液及上

述黑曲霉孢子悬液各 1 mL, 分别用 45℃ 玫瑰红钠琼脂培养基 20 mL 注皿, 各平行测定 2 皿, 25℃ 培养 72 h, 计数, 均为 50~100 cfu·mL⁻¹。

2.3 供试液制备

本品为新型高分子材料, 在水中成团, 溶解较慢, 吸水迅速膨胀, 溶解液黏稠, 不易于吸取, 所以制备成 1:20 的溶液。取供试品 5 g, 加入 10 g 无菌甘油中, 用无菌玻璃棒搅拌均匀, 加 45℃ pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100 mL, 置于 45℃ 电热板上保温搅拌均匀, 作为 1:20 的供试液^[1]。

2.4 细菌、霉菌及酵母菌计数方法验证

2.4.1 菌液组 取 1 mL “2.2” 项下制备的菌液, 注入平皿, 立即倾倒琼脂培养基, 每株试验菌平行制备 2 个平皿。按平皿法测定其菌数。

2.4.2 供试品对照组 取 1:20 的供试液 1 mL, 按平皿法测定其菌数。

2.4.3 试验组 取 1:20 的供试液 1 mL 和 “2.2” 项下制备好的菌液 1 mL 置于平皿, 加入营养琼脂培养基或玫瑰红钠琼脂培养基, 混合均匀, 放置凝固后, 置培养箱中培养, 计数。

2.4.4 稀释剂对照组 取稀释液 1 mL, 加入 1 mL “2.2” 项下制备的菌液, 按菌液组同法操作。

2.4.5 计算 回收率数据的计算公式为如下, 结果见表 1。

稀释剂对照组的菌数回收率=

$$\frac{\text{稀释剂对照组平均菌落数}}{\text{菌液组平均菌落数}} \times 100\%$$

试验组的菌数回收率=

$$\frac{\text{菌液组平均菌落数} - \text{供试品对照组平均菌落数}}{\text{菌液组平均菌落数}} \times 100\%$$

表 1 菌落计数结果

Tab 1 Results of colony count

菌种名称	菌种代数	菌落数/cfu				回收率/%		结果
		菌液组	试验组	供试液对照组	稀释剂对照组	稀释剂对照组	试验组	
大肠埃希菌	4	93	89	0	91	98	96	符合规定
金黄色葡萄	4	89	77	0	84	94	87	符合规定
枯草芽胞杆菌	3	67	54	0	64	96	81	符合规定
白色念珠菌	4	77	65	0	62	81	84	符合规定
黑曲霉	3	69	64	0	58	84	93	符合规定

由表 1 可知, 3 批样品的平行验证试验中, 金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽胞杆菌、白色念珠菌、黑曲霉的回收率均>70%, 所以本法可用于供试品细菌、霉菌和酵母菌计数的检查。

2.5 控制菌检查方法验证

2.5.1 金黄色葡萄球菌检查方法验证 取 1:20 的供试品溶液 20 mL 和 “2.2” 项下制备好的金黄色葡萄球菌液 1 mL, 加入 100 mL 营养肉汤培养基中, 置于 33℃ 培养 18~24 h, 依照金黄色葡萄球菌检查法进行检查。检验结果见表 2。

表 2 金黄色葡萄球菌检查方法验证结果

Tab 2 Results of verification test for *Staphylococcus aureus*

培养与试验	呈现反应				试验组
	阴性菌 对照组	阴性 对照组	供试品 对照组	阳性 对照组	
营养肉汤	+	-	-	+	+
甘露醇氯化钠琼脂平板	-	-	-	+	+

表 3 铜绿假单胞菌检查方法验证结果

Tab 3 Results of verification test for *Pseudomonas aeruginosa*

培养与试验	呈现反应				
	阴性菌对照组	阴性对照组	供试品对照组	阳性对照组	试验组
BL 增菌培养基	+	-	-	+	+
溴代十六烷基三甲胺平板	-	-	-	+	+

由表 2~3 检验结果表明, 取 1 : 20 供试品溶液进行控制菌检查, 无抑菌活性, 可采用常规法进行控制菌检查。

3 讨论

HQ841 水凝胶树脂粉为新型高分子材料, 在水中成团, 溶解较慢, 吸水迅速膨胀, 溶解液黏稠, 很难进行常规样品溶液的配制。本实验将样品先与甘油搅拌均匀, 再加 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液稀释至 100 mL 搅拌, 这样减小样品的团块, 较容易溶解。因为样品溶液太稠, 不易于

2.5.2 铜绿假单胞菌检查方法验证 取上述 1 : 20 的供试品溶液 20 mL 和“2.2”项下制备好的铜绿假单胞菌液 1 mL, 加入 100 mL 胆盐乳糖培养基中, 置于 33 °C 培养 18~24 h, 依照铜绿假单胞菌检查法进行检查。检验结果见表 3。

吸取, 所以制备为 1 : 20 的溶液作为供试液。

整个试验所用溶剂, 操作过程尽量保持在 45 °C, 较高的温度有利于样品的溶解, 降低供试液的黏度。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010) Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix XI J 107-116.
- [2] Chinese drug test standard operation specification(中国药品检验标准操作规范) [S]. 2010: 351-407.

收稿日期: 2013-03-26

电感耦合等离子体质谱法检测明胶空心胶囊中 10 种元素的含量

朱琳娇^{1,2}, 陈运动², 吴永江^{1*} (1. 浙江大学药学院, 杭州 310058; 2. 绍兴市食品药品检验所, 浙江 绍兴 312071)

摘要: 目的 建立用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定明胶空心胶囊中钒、铬、锰、镍、铜、砷、锑、镉、钡、铅 10 种元素含量的方法。方法 微波消解法处理明胶空心胶囊, 用 ICP-MS 同时检测明胶空心胶囊中 10 种元素的含量。结果 10 种元素的方法检出限范围为 0.011~0.203 ng·mL⁻¹, 线性关系良好($r>0.999$), 回收率为 85%~115%, RSD<10%。结论 本方法准确可靠、灵敏便捷, 可用于明胶空心胶囊中多种元素的测定。

关键词: 明胶空心胶囊; 元素分析; 电感耦合等离子体质谱法

中图分类号: R917.03

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)11-1228-05

Determination of 10 Elements in Vacant Gelatin Capsules by ICP-MS

ZHU Linjiao^{1,2}, CHEN Yundong², WU Yongjiang^{1*} (1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Shaoxing Institute for Food and Drug Control, Shaoxing 312071, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of 10 elements such as V, Cr, Mn, Ni, Cu, As, Sr, Cd, Ba and Pb in vacant gelatin capsules by inductively coupled plasma-mass spectrometry(ICP-MS). **METHODS** The samples were digested by microwave, and ten elements were determined by ICP-MS simultaneously. **RESULTS** The detection limit

作者简介: 朱琳娇, 女, 主管药师 Tel: (0575)88063192 E-mail: zlj.zlh@163.com
(0571)88208455 E-mail: yjwu@zju.edu.cn

*通信作者: 吴永江, 男, 博士, 教授 Tel: