

acid in human plasma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(8): 1339-1345.

[7] YU X, ZHOU Z H, YUAN H Y, et al. Simultaneous determination of two constituents in Ezetimibe and Simvastatin tablets by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(9): 1008-1011.

[8] WANG P, JIANG X H, WANG L. Assessment of matrix

effect in quantitative bioanalytical methods based on LC-MS<sup>n</sup> [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2011, 20(20): 1953-1956.

[9] European Medicines Agency(EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use, Guideline on validation of bioanalytical methods [S]. 2009.

收稿日期: 2014-10-21

## HPLC 测定枳术宽中胶囊中 4 种有效成分

胡冰, 王鼎峰(莆田市药品检验所, 福建 莆田 351100)

**摘要:** 目的 建立 HPLC 测定枳术宽中胶囊中 4 种有效成分的测定方法。方法 采用高效液相色谱仪, 色谱柱为 C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温: 25 °C, 应用梯度洗脱、双波长检测等方法, 对该制剂的 4 种有效成分(白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d)进行定量分析。结果 白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的浓度分别在 33.75~540 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 7), 194.5~311.2 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 5), 131.68~2 106.84 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 7)和 17.08~273.32 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 8) 内与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率分别为 99.58%, 99.41%, 99.77%, 99.86%。结论 本方法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可用于枳术宽中胶囊的质量控制。

**关键词:** 枳术宽中胶囊; 白术内酯 I; 橙皮苷; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0335-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.019

### Determination of Four Effective Ingredients in Zhizhukuanzhong Capsule by HPLC

HU Bing, WANG Dingfeng(Putian Institute for Drug Control, Putian 351100, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for four effective ingredients in Zhizhukuanzhong capsule by HPLC.

**METHODS** The analysis was performed with C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, column temperature was maintained at 25 °C, the methods using gradient elution, dual wavelength detection and so on, quantitatively determined the four components of the preparation. **RESULTS** Atractylenolide I, hesperidin, saikosaponin a and saikosaponin d showed the good linear relationship in the ranges of 33.75~540 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 7), 194.5~311.2 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 5), 131.68~2 106.84 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 7) and 17.08~273.32 μg·mL<sup>-1</sup>(*r*=0.999 8), and the average recoveries were 99.58%, 99.41%, 99.77% and 99.86%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, and reproducible. It can be used to control the quality of Zhizhukuanzhong capsule.

**KEY WORDS:** Zhizhukuanzhong capsule; atractylenolide I; hesperidin; saikosaponin a; saikosaponin d; HPLC

枳术宽中胶囊系由白术、枳实、柴胡、山楂 4 味中药经加工提取制成的复方制剂, 具有健脾和胃、理气消痞之功效, 用于胃痞(脾虚气滞), 症见呕吐、反胃、纳呆、返酸等, 以及功能性消化不良见上述症状者。方中白术健脾益气, 燥湿利水, 为君药; 枳实破气消积, 化痰散痞, 为臣药; 柴胡疏肝解郁, 升阳举气, 为佐使药<sup>[1]</sup>。为更好控制该药品质量, 本实验以处方中 3 味药材各自的有效成分白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 为定量控制指标, 建立高效液相色谱测定方

法, 为该复方制剂提供更全面、有效的质量控制方法。

### 1 仪器、试剂与试药

#### 1.1 仪器

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪(日本岛津), UV-VIS 检测器, LC solution 色谱工作站; UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津); CPA 224S 型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Elmasonic S150 实验室应用型超声波清洗器(德国 Elma 公司); 80-2 型离心沉淀器(上海手术器械厂)。

作者简介: 胡冰, 女, 主管药师 Tel: (0594)2601058 E-mail: bingbing0594@163.com

## 1.2 试剂与试药

柴胡皂苷 a 对照品(批号: 110777-201108, 纯度: 90.5%)、柴胡皂苷 d 对照品(批号: 110778-201208, 纯度: 94.6%)和橙皮苷对照品(批号: 110721-201115, 纯度: 95.3%)均购自中国食品药品检定研究院; 白术内酯 I 对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司, 批号: MUST-13012005, 纯度: 99.5%); 枳术宽中胶囊(山西双人药业有限责任公司, 批号: 130621, 130829, 131142, 规格: 0.43 g·粒<sup>-1</sup>); 乙腈和甲醇为色谱纯; 无水甲醇和氨水为分析纯; 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 白术、枳实中白术内酯 I、橙皮苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱: Thermo Hypersil GOLD C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水为流动相 A, 甲醇为流动相 B, 梯度洗脱方法见表 1; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

表 1 梯度洗脱色谱条件

Tab. 1 Method of the gradient elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	波长/nm
0~19	67	33	283
19~25	67→40	33→60	220
25~90	40	60	220
90~100	40→67	60→33	283

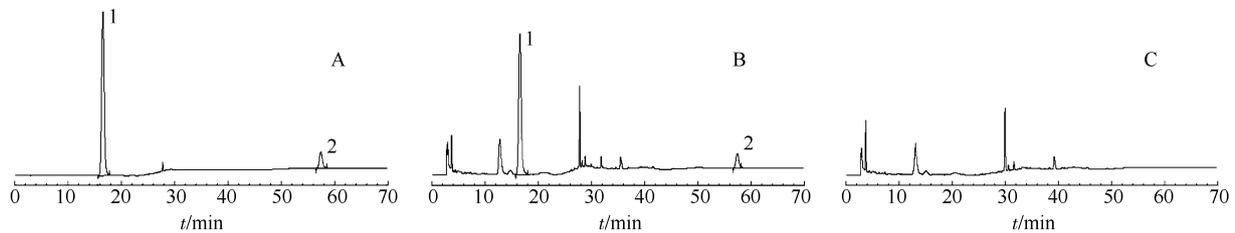


图 1 白术、枳实中白术内酯 I、橙皮苷含量测定的高效液相色谱图

A-混合对照品; B-供试品; C-阴性对照溶液; 1-橙皮苷; 2-白术内酯 I。

Fig. 1 HPLC chromatogram of atractylenolide I and hesperidin in *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and *Aurantii Fructus Immaturus*

A-mixture solution of standards; B-sample solution; C-negative control solution; 1-hesperidin; 2-atractylenolide I.

表 2 白术内酯 I、橙皮苷标准曲线

Tab. 2 The standard curves of atractylenolide I and hesperidin

目标成分	线性方程	相关系数 r	线性范围/ μg·mL <sup>-1</sup>
白术内酯 I	$Y=4\ 331\ 760X+12\ 942$	0.999 7	33.75~540
橙皮苷	$Y=7\ 667\ 598X-1\ 595\ 04$	0.999 5	194.5~311.2

**2.1.7 仪器精密度试验** 分别取“2.1.2”项下混合对照品溶液连续 5 次进样, 每次进样 10 μL, 测

**2.1.2 对照品溶液制备** 取白术内酯 I、橙皮苷对照品, 精密称定, 加甲醇制成浓度为 0.675 mg·mL<sup>-1</sup> 的白术内酯 I 贮备液和 3.89 mg·mL<sup>-1</sup> 的橙皮苷贮备液; 精密量取上述贮备液, 加甲醇制成每 1 mL 含白术内酯 I 0.135 mg、橙皮苷 0.778 mg 的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液制备** 取枳术宽中胶囊内容物适量, 精密称定为 0.478 8 g, 置 25 mL 量瓶中, 甲醇定容, 超声处理(功率 300 W, 频率 37 kHz) 60 min, 放冷至室温, 用甲醇补至刻度线, 静置, 取上层液离心 20 min(4 000 r·min<sup>-1</sup>), 上清液用微孔滤膜滤过, 即得。

**2.1.4 阴性对照溶液制备** 按处方配比制备不含白术和枳实药材的样品, 依照“2.1.3”项下方法制备阴性对照溶液。

**2.1.5 专属性试验** 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液 10 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 结果表明阴性对照溶液无干扰, 本方法有良好的专属性。色谱图见图 1。

**2.1.6 线性关系考察** 精密吸取 2 种对照品贮备溶液各 0.5, 1, 2, 5, 8 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀。按“2.1.1”项下色谱条件, 分别进样 10 μL 进行测定, 绘制标准曲线, 结果见表 2。

定白术内酯 I、橙皮苷的峰面积, 计算其 RSD 值分别为 0.6%, 0.7%。结果表明仪器精密度良好。

**2.1.8 稳定性试验** 取同一批号(130621)的供试品溶液室温放置 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 结果白术内酯 I、橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 0.9%。表明室温放置 24 h, 供试品溶液稳定。

**2.1.9 重复性试验** 称取同一批号(130621)样品 5

份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,进行测定,计算含量,样品中白术内酯 I、橙皮苷含量的 RSD 分别为 0.8%, 0.9%。说明该方法可靠,重复性好。

**2.1.10 加样回收率试验** 精密称定已知含量的枳术宽中胶囊的样品(批号: 130621)粉末 9 份,分 3 组,每组分别精密加入相当于样品中所含白术内酯 I、橙皮苷量的 80%, 100%, 120% 的对照品贮备液进样测定,计算加样回收率,结果见表 3。

表 3 白术内酯 I、橙皮苷加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 3 Recovery test results of atractylenolide I and hesperidin(n=9)

成分	取样量/ g	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
白 术 内 酯 I	0.233 5	2.255 6	0.207 7	2.462 6	99.64		
	0.234 3	2.263 3	0.207 7	2.473 2	101.02		
	0.231 6	2.237 3	0.207 7	2.443 5	99.28		
	0.231 4	2.235 3	0.264 3	2.497 3	99.13		
	0.230 1	2.222 8	0.264 3	2.483 8	98.77	99.58	0.8
	0.230 3	2.224 7	0.264 3	2.490 7	100.63		
	0.229 1	2.213 1	0.321 0	2.531 7	99.24		
	0.230 1	2.222 8	0.321 0	2.543 6	99.95		
	0.229 9	2.220 8	0.321 0	2.537 2	98.57		
橙 皮 苷	0.233 5	13.057 3	10.114 0	23.109 6	99.39		
	0.234 3	13.102 1	10.114 0	23.184 7	99.69		
	0.231 6	12.951 1	10.114 0	23.081 3	100.16		
	0.231 4	12.939 9	12.448 0	25.364 2	99.81		
	0.230 1	12.867 2	12.448 0	25.187 0	98.97	99.41	0.4
	0.230 3	12.878 4	12.448 0	25.218 1	99.13		
	0.229 1	12.811 3	14.782 0	27.435 1	98.93		
	0.230 1	12.867 2	14.782 0	27.553 1	99.35		
	0.229 9	12.856 0	14.782 0	27.525 7	99.24		

**2.1.11 样品含量测定** 精密称定不同批号的枳术宽中胶囊粉末,按“2.1.3”项下方法制备溶液,进样 10  $\mu$ L 进行色谱测定,用外标法计算含量,结果见表 4。

表 4 样品中白术内酯 I、橙皮苷测定结果(n=3)

Tab. 4 Results of sample determination in atractylenolide I and hesperidin(n=3)

批号	白术内酯 I /mg·g <sup>-1</sup>	橙皮苷/mg·g <sup>-1</sup>
130621	9.66	55.92
130829	10.31	55.06
131142	9.92	57.28

**2.2 柴胡中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的含量测定**

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱: Thermo Hypersil GOLD C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-水(40:60); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25  $^{\circ}$ C; 进样量: 10  $\mu$ L。

**2.2.2 对照品溶液制备** 取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 对照品,精密称定,加甲醇制成浓度为 2.633 6 mg·mL<sup>-1</sup> 的柴胡皂苷 a 贮备液和 0.341 7 mg·mL<sup>-1</sup> 的柴胡皂苷 d 贮备液;精密量取上述贮备液,加甲醇制成每 1 mL 含柴胡皂苷 a 0.526 7 mg、柴胡皂苷 d 0.068 3 mg 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液制备** 取枳术宽中胶囊内容物适量,精密称定为 2.009 6 g,置 25 mL 量瓶中,加含 5%浓氨试液的甲醇溶液定容,超声处理(功率 300 W,频率 37 kHz)30 min,放冷至室温,用含 5%浓氨试液的甲醇溶液补至刻度线,静置 2 h,取上层液离心 20 min(4 000 r·min<sup>-1</sup>),取上清液 10 mL,水浴蒸干,残渣用甲醇超声溶解,定容至 10 mL,即得。

**2.2.4 阴性对照溶液制备** 按处方配比制备不含柴胡药材的样品,按“2.2.3”项下方法制备阴性对照溶液。

**2.2.5 专属性试验** 分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液 10  $\mu$ L,按“2.2.1”项下色谱条件测定,结果表明阴性对照溶液无干扰,本方法有良好的专属性。色谱图见图 2。

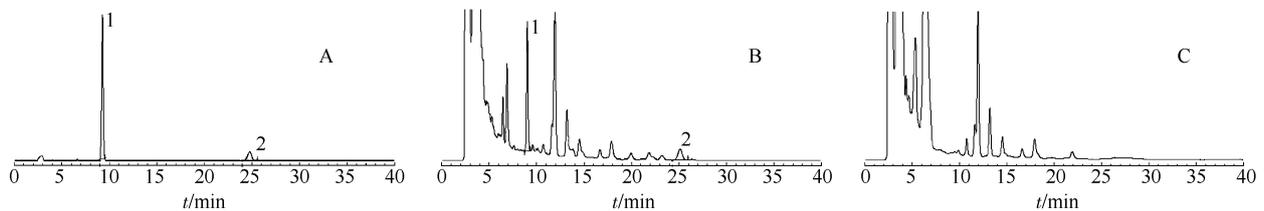


图 2 柴胡中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量测定的高效液相色谱图

A-混合对照品; B-供试品; C-阴性对照溶液; 1-柴胡皂苷 a 对照品; 2-柴胡皂苷 d 对照品。

Fig. 2 HPLC chromatogram of saikosaponin a and saikosaponin d in Bupleuri Radix

A-mixture solution of standards; B-sample solution; C-negative control solution; 1-saikosaponin a; 2-saikosaponin d.

**2.2.6 线性关系考察** 精密吸取 2 种对照品贮备溶液各 0.5, 1, 2, 5, 8 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 甲醇定容, 摇匀。按“2.2.1”项下色谱条件, 分别进样 10  $\mu$ L 进行测定, 绘制标准曲线, 结果见表 5。

表 5 柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 标准曲线

Tab. 5 The standard curves of saikosaponin a and saikosaponin d

目标成分	线性方程	相关系数 <i>r</i>	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
柴胡皂苷 a	$Y=3\ 513\ 675X+16\ 830$	0.999 7	131.68~2 106.84
柴胡皂苷 d	$Y=4\ 131\ 448X-2\ 019$	0.999 8	17.08~273.32

**2.2.7 仪器精密度试验** 分别取“2.2.2”项下混合对照品溶液连续 5 次进样, 每次进样 10  $\mu$ L, 测定柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的峰面积, 计算其 RSD 值分别为 0.4%, 0.5%。结果表明仪器精密度良好。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一批号(130621)的供试品溶液室温放置 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按“2.2.3”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 结果柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 1.2%。表明室温放置 24 h, 样品溶液稳定。

**2.2.9 重复性试验** 称取同一批号(130621)样品 5 份, 按“2.2.3”项下方法制备溶液, 进行测定, 计算含量, 样品中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量的 RSD 分别为 0.6%, 1.1%。说明该方法可靠, 重复性好。

**2.2.10 加样回收率试验** 精密称定已知含量的枳术宽中胶囊的样品(批号: 130621)粉末 9 份, 分 3 组, 每组分别精密加入相当于样品中所含柴胡皂苷 a 及柴胡皂苷 d 量的 80%, 100%, 120% 的对照品贮备液进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 6。

**2.2.11 样品含量测定** 精密称定不同批号的枳术宽中胶囊粉末, 按“2.2.3”项下方法制备溶液, 进样 10  $\mu$ L 进行色谱测定, 用外标法计算含量, 结果见表 7。

### 3 讨论

枳术宽中胶囊收载于国家药品标准(试行)WS-725(Z-151)-2001<sup>[2]</sup>, 标准中含量测定项仅收载了枳实的定量检测方法, 对其他组分的定量检测目前尚无相关文献报道。本实验采用高效液相色谱法, 对该药组方的各有效成分白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 进行定量分析, 结果显示, 上述实验方法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可以考虑作为该制剂的质量控制方法。

表 6 柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab. 6 Recovery test results of saikosaponin a and saikosaponin d( $n=9$ )

成分	取样量/ g	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
柴胡皂苷 a	1.003 2	5.180 0	3.950 3	9.115 3	99.62	99.77	0.6
	1.001 1	5.169 2	3.950 3	9.089 9	99.25		
	1.010 4	5.217 2	3.950 3	9.169 1	100.04		
	1.000 7	5.167 1	5.267 1	10.432 1	99.96		
	1.011 3	5.221 8	5.267 1	10.526 3	100.71		
	1.009 8	5.214 1	5.267 1	10.4227	98.89		
	1.019 3	5.263 2	6.583 9	11.838 5	99.87		
	1.020 5	5.269 4	6.583 9	11.873 7	100.31		
	1.005 9	5.194 0	6.583 9	11.727 8	99.24		
柴胡皂苷 d	1.003 2	1.026 1	0.854 1	1.879 1	99.87	99.86	0.7
	1.001 1	1.023 9	0.854 1	1.879 4	100.16		
	1.010 4	1.033 4	0.854 1	1.883 8	99.56		
	1.000 7	1.023 5	1.025 0	2.046 4	99.79		
	1.011 3	1.034 4	1.025 0	2.062 9	100.35		
	1.009 8	1.032 8	1.025 0	2.052 3	99.46		
	1.019 3	1.042 5	1.195 8	2.226 0	98.97		
	1.020 5	1.043 8	1.195 8	2.254 4	101.24		
	1.005 9	1.028 8	1.195 8	2.216 6	99.33		

表 7 样品中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 测定结果( $n=3$ )

Tab. 7 Results of sample determination in saikosaponin a and saikosaponin d( $n=3$ )

批号	柴胡皂苷 a/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	柴胡皂苷 d/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
130621	5.16	1.02
130829	5.81	1.14
131142	6.03	1.26

有文献报道<sup>[3]</sup>, 在碱性环境下柴胡皂苷 a、d 环氧醚键易开环, 导致结构改变, 因此该制剂中柴胡有效成分的提取采用弱碱溶液(5%浓氨试液的甲醇溶液)进行, 以防止柴胡皂苷 a、d 环氧醚键开环。实验中还发现上述弱碱溶液会对目标成分峰形有影响, 为防止干扰, 故先将溶剂挥干, 再用甲醇定容的方法, 结果检测得到的色谱峰峰形更为理想。

通过紫外分光光度计的扫描, 本实验 4 个目标成分白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 分别在 220, 283, 210 和 210 nm 处有最大吸收, 与相关文献<sup>[3-9]</sup>中白术、枳实、柴胡 3 味中药有效成分的检测波长一致, 由此确定了上述有效成分的吸收波长。

经参考相关文献<sup>[4-7]</sup>确定白术内酯 I、橙皮苷的提取方法及检测条件。预实验中先后采用甲

醇-0.1%磷酸水溶液及甲醇-水进行梯度洗脱、切换波长测定,结果表明以甲醇-水为流动相进行梯度洗脱时,待测组份峰形理想,分离效果好,操作简便。

## REFERENCES

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010: 95-96, 230-231, 263-264.
- [2] 国家药品标准(试行) WS-725(Z-151)-2001 [S]. 2001.
- [3] FU Y, ZHU Z J, HUANG S, et al. Determination of five saikosaponins in *Bupleurum yinchowense* by HPLC [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2011, 23(3): 494-497.
- [4] LIU Y Q, CAI Q. HPLC determination of atractylenolide I and atractylenolide III in 50 batches crude drugs and slices of *Atractylodes macrocephala* Koidz. from different sources [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(7): 1249-1252.
- [5] WU H, ZHAO W L, SHAN G S, et al. Simultaneous

determination of atractylenolide I, II, III in *Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma with and without fried with bran by HPLC wavelength switching [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2013, 35(11): 2484-2487.

- [6] GUO Q L, LU W Q, ZENG L P, et al. HPLC determination of naringin, hesperidin and neohesperidin in Citri Reticulatae Pericarpium and Aurantii Fructus extract [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学), 2012, 18(20): 100-104.
- [7] LIU Y C, ZHANG J. Simultaneous determination of hesperidin and naringin in Orange Tangerine Loquat capsule by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2013, 17(12): 2044-2045.
- [8] 中国药典 2010 年版.一部 [S]. 2010: 263-264.
- [9] ZHAO S M. Determination of saikosaponin a, d in Radix Bupleuri oral liquids by improved HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2013, 16(5): 705-707.

收稿日期: 2014-06-12

## 地衣芽孢杆菌活菌颗粒杂菌检查方法验证

郑小玲<sup>1</sup>, 陈爽<sup>1</sup>, 章鑫萍<sup>2</sup>, 王知坚<sup>1</sup> (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004; 2.浙江京新药业股份有限公司, 浙江 绍兴 312500)

**摘要:** 目的 建立地衣芽孢杆菌活菌颗粒杂菌检查方法。方法 控制菌检查采用平皿涂布法; 非致病性杂菌检查以杂菌率不得过 0.1% 为限度指标, 采用营养琼脂平皿涂布法 37 °C 培养; 真菌计数采用玫瑰红钠琼脂平皿涂布法 25 °C 培养。结果 控制菌检查、非致病性杂菌检查和真菌计数方法均满足中国药典 2010 年版验证试验的基本要求。结论 该方法可作为地衣芽孢杆菌活菌颗粒杂菌检查方法。

**关键词:** 地衣芽孢杆菌; 活菌颗粒; 杂菌检查

中图分类号: R927.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0339-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.020

## Validation for Contaminating Microorganisms Test in *Bacillus Licheniformis* Particles

ZHENG Xiaoling<sup>1</sup>, CHEN Shuang<sup>1</sup>, ZHANG Xinpings<sup>2</sup>, WANG Zhijian<sup>1</sup> (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhengjiang Jingxin Pharmaceutical Co., Ltd., Shaoxing 312500, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for contaminating microorganisms test in *Bacillus licheniformis* particles. **METHODS** Spread plate method was used in the control bacteria examination; the non-pathogenic microbes was counted in nutrient agar and growth at 37 °C, the maximum acceptable count was suggested in 0.1% of total microbes; the sodium rose Bengal agar and growth at 25 °C was used to do the fungi count. **RESULTS** The method was accepted in validation test of Chinese pharmacopoeia 2010. **CONCLUSION** The method can be used in contaminants test for *Bacillus licheniformis* particles control.

**KEY WORDS:** *Bacillus licheniformis*; viable particles; contaminating microorganisms test

地衣芽孢杆菌活菌颗粒属于微生态活菌制剂, 用于治疗急慢性肠炎、痢疾及各种因素引起的肠道菌群失调、腹泻等<sup>[1-2]</sup>。杂菌率是地衣芽孢杆菌活菌颗粒质量控制的重要指标。中国药典

2010 年版三部微生态活菌制品总论项下附录 3 虽列出微生态活菌制品杂菌检查法的一般规定, 但并没有列出各个品种项下不同活菌制剂杂菌检查法的具体检测方法<sup>[3]</sup>。由于微生态活菌制剂种类繁

作者简介: 郑小玲, 女, 硕士生, 主管药师

Tel: (0571)86459427

E-mail: linghuxiao83@163.com