

^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对三七粉中三七皂苷 R1 含量的影响

王海英¹, 孙彩华² (1.台州市立医院, 浙江 台州 318000; 2.浙江省中医院, 杭州 310006)

摘要: 目的 考察 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对三七粉中有效成分三七皂苷 R1 含量的影响。方法 选择 5, 8, 10 kGy 3 种辐照剂量对三七粉进行辐照。采用 UPLC 测定, 比较辐照前后三七粉的需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数及其主要有效成分之一三七皂苷 R1 的含量。结果 三七粉经过 5 kGy 剂量辐照后, 已能达到卫生学标准要求, 且有效成分三七皂苷 R1 含量较辐照前无明显变化; 经过 8, 10 kGy 剂量辐照后, 三七粉中所含三七皂苷 R1 有明显变化。结论 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌的效果理想, 但要慎重选择辐照的剂量。

关键词: ^{60}Co - γ 射线; 灭菌; 三七粉; 三七皂苷 R1; 含量

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)06-0875-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.06.019

引用本文: 王海英, 孙彩华. ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对三七粉中三七皂苷 R1 含量的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(6): 875-877.

Effect of the ^{60}Co - γ Ray Irradiation Sterilization on the Content of Notoginsenoside R1 in Sanqi Powder

WANG Haiying¹, SUN Caihua² (1.Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, China; 2.Zhejiang Hospital of TCM, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of ^{60}Co - γ ray irradiation sterilization on the content of notoginsenoside R1 in Sanqi powder. **METHODS** Before and after the irradiation with three doses (5, 8, 10 kGy), the contents of notoginsenoside R1 and the sums of the aerobic bacteria, mold, yeast were determined by UPLC. **RESULTS** After 5 kGy dose of irradiation, Sanqi powder could meet the hygienic standard, without significant change on the content of notoginsenoside R1. While after the irradiation dose of 8 kGy and 10 kGy, the content of notoginsenoside R1 changed significantly. **CONCLUSION** The effects of sterilization is ideal by ^{60}Co - γ ray. But it is crucial to give more thoughts to the right dose.

KEY WORDS: ^{60}Co - γ ray; sterilization; Sanqi powder; notoginsenoside R1; content

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen 的干燥根和根茎。三七粉是常用于直接内服的中药饮片之一, 具有散瘀止血、消肿定痛之功效, 用于咯血、吐血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌打肿痛等病症^[1]。其中皂苷类成分为其主要有效成分, 三七皂苷 R1 是三七粉中皂苷类的主要成分之一。据报道, 该药在微生物限度项上经常不符合中国药典 2015 年版的标准, 由于粉末物态的特殊性, 常规灭菌的高温容易引起粉末焦化, 且难以找到适合高温常态下的常规灭菌包装, 课题组尝试将三七粉经 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌后再检查其微生物限度, 结果都能达到标准要求。但无法确定 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对其有效成分含量的影响。为此, 笔者采用 3 种剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照, 比较辐照前后的含菌量及三七皂苷 R1 变化情况以明确该药是否适合应用

^{60}Co - γ 射线辐照灭菌法灭菌, 并确定它们的安全辐照剂量, 为该药的生产与使用提供科学的参考依据。

1 仪器与试剂

Waters Ultra Performance LC 及其 Empower 3 工作站(Waters 公司)。

玫瑰红钠琼脂(批号: 120207)、营养琼脂(批号: 131224)、三七皂苷 R1(批号: 110745-201619, 纯度: 95.0%)均购自中国食品药品检定研究院; 0.9%氯化钠注射液(北京双鹤药业股份有限公司, 批号: 140617); 三七粉(台州阜大中药饮片厂, 批号: 140316; 规格: 每包 3 g); 乙腈为色谱纯; 水为纯化水(娃哈哈纯净水); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌^[2-3]

2.1.1 辐照剂量选择 世界卫生组织认为 10 kGy

作者简介: 王海英, 女, 副主任中药师 Tel: (0576)88898773

E-mail: mgy300@126.com

及以下剂量对食品的辐照无需做毒理试验^[4], 故本实验选择了 5, 8, 10 kGy 3 个辐照剂量。

2.1.2 样品处理 样品分为 4 组, 每组 10 包, 原包装直接经 ⁶⁰Co-γ 射线辐照。其中 3 个组为辐照组, 分别为 5 kGy 组、8 kGy 组、10 kGy 组, 余下未辐照一组作为对照组。所有实验用辐照样品均由浙江大学华家池校区辐照中心进行辐照。

2.1.3 测定方法 按照中国药典 2015 年版四部 1105 “非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法”^[5]的要求进行。

2.1.4 灭菌效果检查 检查辐照前后的需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数。辐照第 2 天进行试验, 取供试品 10 g, 置无菌乳钵中, 浸泡于 pH 7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液中, 充分振荡混匀, 添加 pH 7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100 mL, 摇匀, 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, 每个稀释级作 2 个平皿, 再注入溶化并冷却至 45~50 °C 的胰酪大豆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 35 °C 和 25 °C 恒温箱内分别培养 3 d 和 5 d, 然后计算菌落数。

样品经过 5 kGy 剂量的辐照, 已能达到卫生标准要求(需氧菌总数<每克 10³ 个, 霉菌和酵母菌总数<每克 10² 个), 8 kGy 剂量的辐照能彻底灭菌。结果见表 1。

表 1 辐照前后药材含菌量测定结果

Tab. 1 Sum of the bacteria and fungi in sample before and after radiation

样品	辐照剂量/ kGy	需氧菌		霉菌和酵母菌	
		活菌数/ cfu·g ⁻¹	存活率/%	活菌数/ cfu·g ⁻¹	存活率/%
三七粉	0	4.6×10 ³	100	1003	100
	5	21	0.46	0	0
	8	0	0	0	0
	10	0	0	0	0

2.2 三七皂苷 R1 的含量测定

2.2.1 色谱条件^[4] Waters UPLC Ultra Performance LC 超高效液相色谱系统: Acquity C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×10 mm, 1.8 μm); 检测器: VWD; 流动相: A(乙腈)-B(水), 梯度洗脱(0~16 min,

19%→60%A; 16~17 min, 60%→98%A; 17~21 min, 98%A; 21~21.1 min, 98%→19%A; 21.1~23 min, 19%A); 流速: 0.2 mL·min⁻¹; 检测波长: 203 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 0.2 μL。对照品及供试品色谱图见图 1。

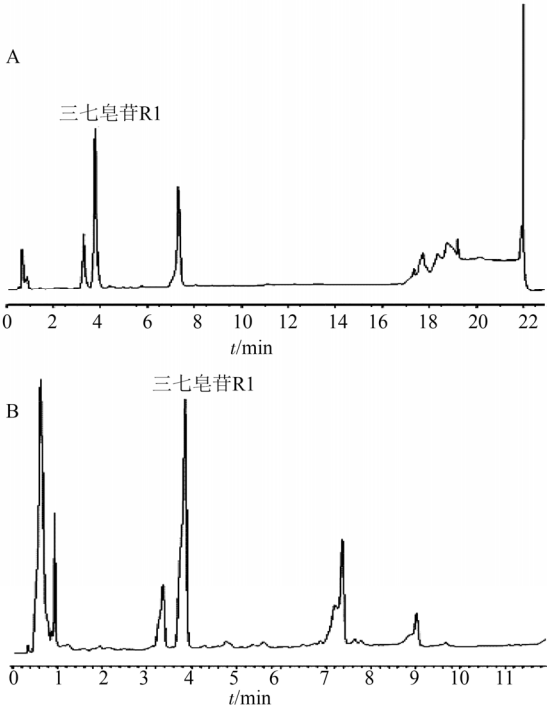


图 1 高效液相色谱图

A-三七皂苷 R1; B-三七粉样品。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-notoginsenoside R1; B-Sanqi powder.

2.2.2 溶液的制备^[5] ①供试品溶液: 取样品约 0.6 g, 精密称定, 置 100 mL 烧瓶中, 精密加甲醇 50 mL, 称定质量。放置过夜, 置 80 °C 水浴上保持微沸腾 2 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 滤液作为供试液。②对照品溶液: 精密称取三七皂苷 R1 对照品 10.0 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 作为对照品溶液。

2.2.3 样品的含量测定^[5-7] 采用文献条件、方法, 测定各组样品中三七皂苷 R1 的含量(平行测 3 份), 经各辐照剂量辐照后的样品与对照组(0 kGy)比较, 5 kGy 组三七皂苷 R1 的含量无明显差异, 8 kGy 组、10 kGy 组三七皂苷 R1 的含量明显降低。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab. 2 Results of sample determination($n=3$)

序号	辐照剂量/ kGy	含量/ mg·g ⁻¹	平均含量/ mg·g ⁻¹	RSD/%
1	0	5.83		
2	0	5.79	5.82	0.52
3	0	5.85		
1	5	5.68		
2	5	5.83	5.77	1.41
3	5	5.81		
1	8	4.16		
2	8	4.07	4.11	1.11
3	8	4.10		
1	10	3.28		
2	10	3.25	3.21	3.19
3	10	3.09		

3 讨论

供直接口服的中药粉末状药材鉴于其物态的特殊性和有效成分的稳定性考虑,不宜采用传统高温灭菌法。课题组采用食品辐照灭菌法对三七粉进行灭菌,结果表明,所试样品经 5 kGy 剂量的辐照,就能符合灭菌要求,经 10 kGy 剂量的辐照,能彻底灭菌,⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌效果理想;但经 8, 10 kGy 辐照后,三七皂苷 R1 的含量有明

显衰减,因此推断三七粉可采用此方法进行灭菌,其安全有效的辐照剂量为 5 kGy,而 8, 10 kGy 的剂量必须谨慎选择。

REFERENCES

- [1] MENG L Z, LUO Z P, LI W G, et al. Effects of ⁶⁰Co- γ radiation sterilization on the active components and hemostatic function of superfine powders of *Panax notoginseng* [J]. Pharmacy Today(今日药学), 2017, 27(8): 510-513.
- [2] 杜鹃, 刘建滨. 乙肝散 ⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌研究[J]. 中草药, 2000, 31(9): 675.
- [3] SUN J Y, CHEN H M, LI Z K, et al. Effect of the radiant sterilization on the contents of the effective components of *Radix Paeoniae alba* and *Radix Scutellariae* [J]. China Pharmacist(中国药师), 2007, 10(8): 777-778.
- [4] 国家食品药品监督管理总局. 中药辐照灭菌技术指导原则 [S]. 2015, 第 86 号.
- [5] 中国药典. 四部[S]. 2015: 140-141.
- [6] JIANG T, CHEN L M, LIN D B. Method study of ultra high performance liquid chromatography in determination of notoginsenoside R1 and ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1 in *panax notoginseng* [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2014, 8(20): 15-16.
- [7] HUANG Q M, CAO Z Q, DING M G. Determination of notoginsenoside R1, ginsenoside Rg1 in *Xinkeshu* capsule by HPLC-ELSD [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(8): 770-773.

收稿日期: 2017-12-06
(本文责编: 李艳芳)