

## 辐射灭菌对西洋参巴布剂质量的影响

谢友良<sup>1,2</sup>, 童玉林<sup>1</sup>, 赵学军<sup>1,2</sup>, 赖小平<sup>1,2</sup>, 刘常青<sup>1</sup>, 蒋东旭<sup>1,2</sup>, 易智彪<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广州 510006;

2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的: 考察不同剂量的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照灭菌对西洋参巴布剂黏附性及主要有效成分含量的影响。方法: 建立 HPLC 测定西洋参巴布剂中 3 种人参皂苷的含量, 比较不同剂量辐照前后西洋参巴布剂的黏附性能及有效成分含量的变化。结果: 西洋参巴布剂在不同剂量的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照前后其黏附性无明显变化, 辐照前后西洋参巴布剂人参皂苷 R<sub>g1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 含量分别约为 8, 90, 90, 22, 189  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。结论: 不同剂量<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照前后西洋参巴布剂的黏附性及 3 种人参皂苷含量无明显变化。

[关键词] 西洋参巴布剂; <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线; 人参皂苷; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)08-0098-05

[doi] 10.11653/syfy2013080098

## Effect of Irradiant Sterilization on Quality of American Ginseng Cataplastm

XIE You-liang<sup>1,2</sup>, TONG Yu-lin<sup>1</sup>, ZHAO Xue-jun<sup>1,2</sup>, LAI Xiao-ping<sup>1,2</sup>,  
LIU Chang-qing<sup>1</sup>, JIANG Dong-xu<sup>1,2</sup>, YI Zhi-biao<sup>2\*</sup>

(1. Research & Development Center of New Drugs, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematical Engineering Academy of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence on the adhesive activity and effective component content in American ginseng cataplastm with different radiation doses. **Method:** A HPLC method was established for the determination of 3 kinds of ginsenoside in American ginseng cataplastm; changes of adhesive activity and main constituents were compared in samples irradiated with different radiation doses. **Result:** <sup>60</sup>Co- $\gamma$  radiation with different radiation didn't lead the adhesive activity of American ginseng Cataplastm to change obviously, and the content of ginsenoside R<sub>g1</sub>, ginsenoside Re and ginsenoside Rb<sub>1</sub> in American ginseng cataplastm was about 8, 90, 90, 22 and 189  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  respectively before and after <sup>60</sup>Co- $\gamma$  radiation. **Conclusion:** There is no obvious influence on the adhesive activity and the content of main constituents of American ginseng cataplastm before and after sterilization with the method of <sup>60</sup>Co- $\gamma$  radiation.

[Key words] American ginseng Cataplastm; <sup>60</sup>Co- $\gamma$  ray; ginsenoside; HPLC

西洋参巴布剂是由西洋参、维生素 E 等药物与卡波姆、甘油等多种高分子基质按照一定比例

制备而成的一种外用制剂, 具有缓解疲劳、抗衰老及抗氧化、增强免疫等功效。西洋参为方中君药, 人参

[收稿日期] 20120313(008)

[基金项目] 广东省东莞市高等院校科研机构科技计划项目(201010810203); 广东省科技计划项目(2010BB091000001)

[第一作者] 谢友良, 助理研究员, 博士, 从事中药新药研发工作, E-mail: xieyl@gzhtcm.edu.cn

[通讯作者] \* 易智彪, 副研究员, 博士后, 从事中药新药及健康品开发研究, E-mail: zhibiaoyi@163.com

皂苷类成分为其最主要药理活性物质<sup>[1]</sup>。由于传统的高温高湿灭菌温度高、时间长,不仅使制剂的理化性质改变,而且对西洋参中的有效成分人参皂苷有较大破坏,而<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照温湿度几乎不增加,并且具有灭菌快速、彻底、无残留、对成分破坏小的优点<sup>[2-3]</sup>,故我们采用不同剂量<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照灭菌,考察辐照前后本制剂黏附性及其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>这三种有效成分含量的变化,为西洋参巴布剂的质量标准研究及生产灭菌提供参考依据。

## 1 材料

初黏性测试仪(济南兰光机电技术有限公司,CZY-G),持黏性测试仪(济南兰光机电技术有限公司,CZY-6S),剥离强度测试仪(济南兰光机电技术有限公司,BLD-200S),岛津UFLC高效液相色谱仪(日本岛津公司,ECOSIL-C<sub>18</sub>色谱柱),Sartorius CP225D型1/10万天平(德国sartorius公司),LE-500型电子天平(佛山市华天力电子天平厂),KQ3200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,频率50 kHz,功率250 W),SHZ-D(III)型循环真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),N-1001型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司),<sup>60</sup>Co辐照设备由广州华大生物科技有限公司提供。

人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品(批号110703-201027)、人参皂苷Re对照品(批号110754-200822)、人参皂苷Rb<sub>1</sub>(批号110704-201122)均由中国药品生物制品检定所提供,乙腈为色谱纯(美国Merck公司),水为怡宝牌纯净水(临用时过0.45  $\mu$ m微孔滤膜),其余试剂均为分析纯(天津市大茂化学试剂厂),西洋参巴布剂(由东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院提供,批号110617,110718,110902)和不含西洋参的阴性样品(批号110617)。

## 2 方法

**2.1 供试样品的处理** 世界卫生组织认为10 kGy及以下剂量对食品的辐照无需作毒理试验<sup>[4-6]</sup>,故高剂量选择10 kGy;故本实验选择了6, 8, 10 kGy 3个辐照剂量。取3批西洋参巴布剂样品,每批分为4组,其中3组为辐射组,分别按6, 8, 10 kGy剂量单独辐照处理;余下1组不进行辐照,作为对照。所有实验用辐照制剂样本均由广州华大生物科技有限公司辐照中心辐照。

**2.2 样品黏附性的评价方法** 采用分别对供试品进行初黏力、持黏力、剥离强度的测定以及感官综合评分的方法进行。

初黏力、持黏力、剥离强度分别参照《中国药

典》(2010年版一部)附录XII E贴剂黏附力测定法第1法、第2法、第3法测定。

感官综合评分是根据膏体外观性状、贴于皮肤上舒适性、皮肤追随性、残留性、反复揭贴性等主观指标<sup>[7-8]</sup>,采用评分法,各指标满分为5分,总分25分,综合分数越高,膏体的性能越好。具体标准见表1。取各批次按2.1方法处理的样品,每组10份,依次编号,打乱次序放在同一容器中。选取10位同一年龄段评分者(5男5女),分别同时从容器中随机抽取12份样品按表1标准进行评分,其中每位评分者对各编号样品所作处理及批次信息未知。以平均值 $\pm$ 标准差来表示样品的感官综合评分。

表1 感官综合评分指标及具体要求

感官综合评分指标	具体要求	指标满分值
外观性状	色泽均匀,无明显的颗粒、气泡等	5
舒适性	软硬舒适,无紧绷或刺激感	5
皮肤追随性	将巴布剂贴于手腕上,用力甩10次不掉	5
膏体残留性	巴布剂揭除后,不存在残留,膏面不被破坏	5
反复揭贴性	反复揭贴后仍保持良好的黏性	5

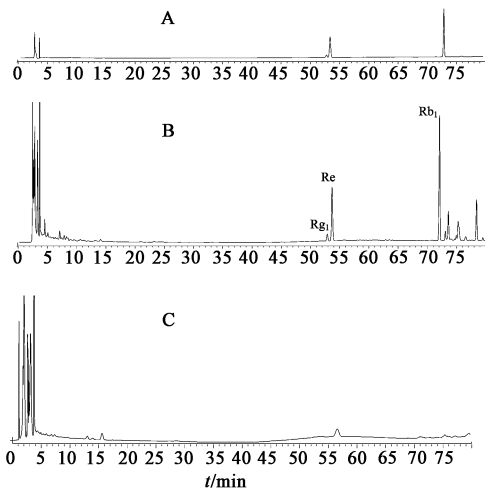
## 2.3 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照前后人参皂苷含量的考察

**2.3.1 色谱条件** ECOSIL-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5.0  $\mu$ m),乙腈(A)-0.1%磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 35 min, 19% A; 35 ~ 55 min, 19% ~ 29% A; 55 ~ 75 min, 29% ~ 40% A; 75 ~ 80 min, 40% ~ 90% A),检测波长203 nm,流速1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,柱温40  $^{\circ}$ C,进样量10  $\mu$ L。在该色谱条件下,样品中被测成分能够达到基线分离,阴性样品对测定无干扰,见图1。

### 2.3.2 溶液的制备

**2.3.2.1 混合对照品溶液的制备** 分别精密称取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re、人参皂苷Rb<sub>1</sub>对照品适量,加入甲醇分别制成0.648, 0.587, 0.791 g $\cdot$ L<sup>-1</sup>的对照品储备液。再分别精密移取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>储备液0.5, 6.5, 9.0至25 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,制成含人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>分别为12.96, 152.62, 284.76 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

**2.3.2.2 供试品溶液的制备** 取西洋参巴布剂(2 cm  $\times$  2 cm)2片,剪成细条状,除去防黏层,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇20 mL,浸泡24 h,每6 h摇匀一次,过滤,收集滤液,洗涤巴布剂细条及滤纸3次,洗涤液并入滤液中并减压蒸干,用15 mL蒸馏水溶解并转移至分液漏斗中,加入水饱和正丁醇萃取4



A. 混合对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照样品溶液

图 1 西洋参巴布剂 HPLC

次,每次 20 mL,合并上层溶液,减压蒸干,用适量甲醇溶解并移至 5 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

**2.3.2.3 阴性对照样品溶液的制备** 取不加西洋参的阴性巴布剂,按 2.3.2.2 项下方法制备阴性对照样品溶液。

**2.3.3 线性关系考察** 精密吸取上述混合对照品溶液 2,4,6,8,10,15 μL 依次进样,按 2.3.1 项下色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标(Y)、各对照品进样量为横坐标(X)进行线性回归,结果见表 2。

表 2 西洋参巴布剂中 3 种人参皂苷线性考察

测定成分	线性方程	相关系数	线性范围 /μg
人参皂苷 R <sub>g1</sub>	$Y = 401\ 459X - 384.5$	0.999 8	0.025 9 ~ 0.194 4
人参皂苷 Re	$Y = 255\ 334X + 7\ 342.9$	0.999 9	0.305 2 ~ 2.289 3
人参皂苷 R <sub>b1</sub>	$Y = 231\ 307X - 3\ 219.5$	0.999 9	0.569 5 ~ 4.271 4

**2.3.4 精密度试验** 精密吸取 2.3.2.2 项下供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,按 2.3.1 项下色谱条件进行测定,以峰面积计算,其 RSD 人参皂苷 R<sub>g1</sub> 为 0.74%,人参皂苷 Re 为 0.36%,人参皂苷 R<sub>b1</sub> 为 0.33%。表明仪器精密度良好。

**2.3.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液按 2.3.1 项下色谱条件分别于 0,2,4,6,8,10,12 h 进样,记录峰面积,计算其 RSD。人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>b1</sub> 的 RSD 分别为 0.68%,0.37%,0.32%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.3.6 重复性试验** 取同一批(批号 110617)辐照前西洋参巴布剂,按 2.3.2.2 项下方法平行制备 6

份供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定并计算含量。结果显示,人参皂苷 R<sub>g1</sub>,Re,R<sub>b1</sub> 含量分别为 8.4,90.9,189.5 μg·cm<sup>-2</sup>,其相应的 RSD 分别为 1.64%,2.21%,2.53%。表明该方法重复性良好。

**2.3.7 加样回收试验** 取已知含量的辐照前西洋参巴布剂(批号 110617)6 份,分别精密加入人参皂苷 R<sub>g1</sub>,Re,R<sub>b1</sub> 储备液 0.05,0.6,1.0 mL,按 2.3.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定并计算含量。结果见表 3。

### 3 结果

**3.1 黏附性评价结果** 3 个批次样品在不同辐照剂量下初黏力、持黏力、剥离强度、感官指标综合评分的比较见表 4。

不同剂量<sup>60</sup>Co-γ 射线辐照前后西洋参巴布剂的初黏力、持黏力、剥离强度基本保持不变;与对照组相比,各批不同辐射剂量组综合感官评分无显著性差异(*t* 检验)。提示各剂量的辐照处理对西洋参巴布剂的黏附性能无明显影响。

**3.2 样品含量测定** 取按 2.1 项处理的西洋参巴布剂样品 3 批,按 2.3.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定并计算含量,每批平行操作 3 份。样品含量用  $\bar{x} \pm s$  来表示,结果见表 5。

结果显示,与对照组相比,各批样品经不同剂量<sup>60</sup>Co 辐照后,3 种皂苷含量无明显差异(*t* 检验),说明各剂量辐照灭菌对该制剂 3 种主要有效成分无明显影响。

### 4 讨论

目前<sup>60</sup>Co 辐照灭菌剂量标准尚没有对巴布剂作出明确规定,因此本研究参考国际上对食品的辐照灭菌剂量要求及研究结果<sup>[5-6]</sup>,即在 10 kGy 以内的辐照食品不再需要进行毒理试验,同时根据公式  $S_D = D_{10} \times \text{Lg}(N_0/N)$  (其中  $D_{10}$  为灭菌效果使细菌被杀灭 90% 所需剂量, $N_0$  为原始菌数, $N$  为辐射后要求达到的残留菌数)计算得最佳灭菌剂量  $S_D$  约为 10 kGy,以此作为实验中辐射剂量的选择依据。

综合以上实验结果,提示<sup>60</sup>Co-γ 辐照灭菌在 6-10 kGy 剂量范围内不会引起西洋参巴布剂的黏附性能及有效成分含量产生明显变化。

由于<sup>60</sup>Co-γ 辐照灭菌法穿透力强,操作简便,速度快,可在常温下进行,是一种新型高效的灭菌方法,因而近年来在医药食品行业得到了广泛应用。但对不同的医药食品其最佳的辐照剂量也不同,既能达到灭菌效果、又保持有效成分和疗效的辐照剂量,应通过实验来确定。

表3 西洋参巴布剂中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的加样回收率(n=6)

测定成分	取样面积/cm <sup>-2</sup>	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	4.0	0.033 6	0.032 4	0.065 1	97.19	97.54	1.96
	4.0	0.033 6	0.032 4	0.065 8	99.38		
	4.0	0.033 6	0.032 4	0.064 4	95.01		
	4.0	0.033 6	0.032 4	0.066 1	100.17		
	4.0	0.033 6	0.032 4	0.064 9	96.46		
人参皂苷 Re	4.0	0.033 6	0.032 4	0.065 0	97.05	98.61	2.02
	4.0	0.363 6	0.352 2	0.719 8	101.14		
	4.0	0.363 6	0.352 2	0.699 4	95.35		
	4.0	0.363 6	0.352 2	0.715 5	99.92		
	4.0	0.363 6	0.352 2	0.708 7	97.99		
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	4.0	0.363 6	0.352 2	0.712 9	99.18	98.34	2.58
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.524 7	96.93		
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.510 0	95.07		
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.554 4	100.68		
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.562 4	101.69		
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.540 5	98.92		
	4.0	0.758 0	0.791 0	1.523 3	96.75		

表4 初黏力、持黏力、剥离强度和感官综合评分( $\bar{x} \pm s$ )

项目	批号	对照组	辐照剂量/kGy		
			6	8	10
初黏力/钢球号	110617	21	21	21	21
	110718	20	20	20	20
	110902	21	20	21	21
持黏力脱落时间/s	110617	68	65	67	68
	110718	64	64	63	64
	110902	70	70	70	71
剥离强度/kN/m	110617	0.61	0.61	0.61	0.61
	110718	0.62	0.61	0.62	0.61
	110902	0.58	0.58	0.59	0.59
感官综合评分(n=10)	110617	21.53 ± 0.02	21.42 ± 0.01	21.50 ± 0.03	21.39 ± 0.04
	110718	22.37 ± 0.05	22.54 ± 0.02	22.33 ± 0.07	22.43 ± 0.01
	110902	21.33 ± 0.01	21.28 ± 0.07	21.35 ± 0.02	21.40 ± 0.03

表5 辐照前后西洋参巴布剂中3种人参皂苷的含量测定(n=3)

测定成分	批号	对照组	辐照剂量/kGy		
			6	8	10
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	110617	8.43 ± 0.08	8.50 ± 0.15	8.03 ± 0.10	8.34 ± 0.08
	110718	7.20 ± 0.06	7.33 ± 0.12	7.49 ± 0.07	7.24 ± 0.09
	110902	8.51 ± 0.05	8.63 ± 0.09	8.27 ± 0.08	8.42 ± 0.12
人参皂苷 Re	110617	90.22 ± 0.05	90.21 ± 0.03	90.21 ± 0.07	90.10 ± 0.03
	110718	82.74 ± 0.02	82.61 ± 0.03	82.68 ± 0.05	82.61 ± 0.04
	110902	91.11 ± 0.02	90.94 ± 0.08	91.03 ± 0.02	91.21 ± 0.03
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	110617	189.20 ± 0.03	189.00 ± 0.04	189.49 ± 0.03	189.09 ± 0.05
	110718	173.59 ± 0.04	173.69 ± 0.03	173.30 ± 0.04	173.79 ± 0.05
	110902	189.69 ± 0.06	189.79 ± 0.04	189.70 ± 0.07	189.72 ± 0.06

# 西洋参鲜品与干品蛋白质、维生素 C、维生素 E、 挥发油成分及超氧化物歧化酶活性的比较

张建遼<sup>1</sup>, 高睿<sup>1</sup>, 康廷国<sup>1</sup>, 窦德强<sup>1\*</sup>, 王谷强<sup>2</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600;

2. 辽宁省宽甸长白山石柱野山参发展有限公司, 辽宁 丹东 118000)

**[摘要]** 目的:对西洋参鲜品和干品蛋白质、维生素 C、维生素 E、挥发油成分及超氧化物歧化酶活性进行比较,为西洋参的合理应用提供参考。方法:蛋白质分析采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法;维生素 C、维生素 E 含量测定采用分光光度法;挥发油成分分析采用 GC-MS 的方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用邻苯三酚自氧化法;并对测定结果进行 *t* 检验。结果:西洋参鲜品与西洋参干品的蛋白质电泳谱带有所不同,但鲜品蛋白质含量高于干品;维生素 C、维生素 E 含量、SOD 活性西洋参鲜品极显著高于干品( $P < 0.01$ ),挥发油含量、成分种类西洋参鲜品多于干品,且成分有所不同。结论:西洋参鲜品与干品的蛋白质、维生素 C、维生素 E、挥发油成分有所不同,SOD 活性有所差异,这可能是二者药性及作用不同的原因之一。

**[关键词]** 西洋参; 维生素 C; 维生素 E; 超氧化物歧化酶; 气相色谱-质谱联用; SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0102-05

**[doi]** 10.11653/syjf2013080102

**[收稿日期]** 20120724(006)

**[基金项目]** 辽宁省高等学校优秀人才支持计划项目(2008RC34)

**[第一作者]** 张建遼, 讲师, 在读博士研究生, 从事中药资源及品质评价研究, Tel: 0411-87586004, E-mail: lnzyzjk@sina.com

**[通讯作者]** \* 窦德强, Tel: E-mail: qoudeqiang2003@yahoo.com.cn

关于文中的含量测定方法,笔者结合文献[9-10],对提取溶剂(正丁醇饱和水、70%乙醇、甲醇和水饱和正丁醇)、提取方法(超声提取法、回流提取法和冷浸法)、样品前处理方法以及 HPLC 色谱条件进行了考察,最后确定了用甲醇进行冷浸提取、再用水饱和正丁醇萃取后去除基质干扰制备样品, HPLC 条件采用柱温控制在 40 ℃、流动相中加入 0.1% 磷酸可以达到较好的分离效果。

## [参考文献]

- [1] 舒思洁. 西洋参及其活性成分的药理学研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2603.
- [2] 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.
- [3] 李奉勤, 史冬霞, 范文成, 等. 考察不同剂量<sup>60</sup>Co-γ射线辐照对冠心胶囊灭菌效果和含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(3): 5.

- [4] 孙建宇, 何富根, 陈红, 等. <sup>60</sup>Co-γ射线辐照对中药地黄和龙胆有效成分的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(1): 39.
- [5] 哈益明. 辐照食品及其安全性[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 112.
- [6] FAO/WHO. Codex general standard for irradiated foods[S]. CODEX-STAN, 1983: 106.
- [7] 刘淑芝, 费虹, 汤亚池, 等. 中药巴布剂制备工艺的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 9.
- [8] 刘林, 方永奇, 薛中峰. β-细辛醚巴布剂制备工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 42.
- [9] 王晓燕, 朱宝珠. HPLC 测定脑脉舒康胶囊中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 56.
- [10] 刘常青, 何百寅, 赖小平, 等. HPLC 测定经络贴巴布剂中 3 种皂苷的含量[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(6): 586.

[责任编辑 顾雪竹]