

引用:周诗施,廖鑫,李鹏辉,蔡媛,孙瑜,姚金成,胥新元,彭艳梅. 2 种辐照方法对红花生粉灭菌的影响[J]. 湖南中医杂志,2023,39(7):189-195,205.

## 2 种辐照方法对红花生粉灭菌的影响

周诗施<sup>1</sup>,廖鑫<sup>2</sup>,李鹏辉<sup>2</sup>,蔡媛<sup>2</sup>,孙瑜<sup>2</sup>,姚金成<sup>1</sup>,胥新元<sup>2</sup>,彭艳梅<sup>2</sup>

(1. 湖南省药品审评与不良反应监测中心,湖南长沙,410013;

2. 湖南省中医药研究院,湖南长沙,410006)

**[摘要]** 目的:以红花生药粉为研究对象,深入探讨 2 种辐照灭菌技术应用于中药生药粉的适宜范围及其优缺点,以期为后期红花生药粉在实际生产应用中选择合适的灭菌方法提供参考。方法:研究不同辐照剂量(0、2、4、6、8、10 kGy)的<sup>60</sup>Co-γ 辐照和电子束辐照对其性状、微生物限度、指标成分含量及指纹图谱的影响。根据不同辐照剂量,优化红花生药粉的 2 种辐照灭菌加工工艺。结果:对比不同辐射源、剂量下红花原生药粉的性状、含菌量、药典成分含量和指纹图谱,在 10 kGy 剂量内,在<sup>60</sup>Co-γ 辐照灭菌和电子束辐照灭菌后,红花的性状变化无显著性差异。低剂量(2 kGy)辐照条件下即能达到国家药品卫生标准细菌总数,贮藏 3 个月后发现,辐照剂量越大检出微生物总数越少,说明辐照剂量的增加有利于红花原生药粉的贮藏,且相同剂量条件下<sup>60</sup>Co-γ 辐照灭菌效果较电子束辐照灭菌效果好。红花生药粉经 2、6、8、10 kGy<sup>60</sup>Co-γ 辐照和电子束辐照后,在 10 kGy 剂量下红花电子束辐照在 10 kGy 内变化差异不显著,红花经 10 kGy<sup>60</sup>Co-γ 辐照后其成分羟基红花黄色素 A 含量发生一定变化,因此建议红花<sup>60</sup>Co-γ 辐照剂量应控制在 0~8kGy 内。

**[关键词]** 红花;生药粉;辐照灭菌;工艺;实验研究

**[中图分类号]**R284.1 **[文献标识码]**A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.07.043

### Effect of two irradiation methods on sterilization of *Carthamus tinctorius* crude drug powder

ZHOU Shishi<sup>1</sup>, LIAO Xin<sup>2</sup>, LI Penghui<sup>2</sup>, CAI Yuan<sup>2</sup>, SUN Yu<sup>2</sup>, YAO Jincheng<sup>1</sup>, XU Xinyuan<sup>2</sup>, PENG Yanmei<sup>2</sup>

(1. Hunan Center for Drug Evaluation and ADR Monitoring, Changsha 410013, Hunan, China;

2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the application of two irradiation sterilization techniques in traditional Chinese medicine (TCM) crude drug powder in terms of scope of application, advantages, and disadvantages with *Carthamus tinctorius* crude drug powder the research object, and to provide a reference for selecting appropriate sterilization methods in the production of *Carthamus tinctorius* crude drug powder. Methods: The methods of <sup>60</sup>Co-γ irradiation and electron beam irradiation at different doses (0, 2, 4, 6, 8, and 10 kGy) were analyzed from the aspects of their influence on properties, microbial limit, content of marker components, and fingerprint. The two irradiation sterilization processes for *Carthamus tinctorius* crude drug powder were optimized based on the different irradiation doses. Results: The samples of *Carthamus tinctorius* crude drug powder treated by irradiation with different sources and doses were compared in terms of properties, bacteria content, content of components in Chinese Pharmacopoeia,

**基金项目:**湖南省自然科学基金科药联合基金项目(2021JJ80052, 2021JJ80046, 2020JJ9041);湖南省重点研发计划项目(2021SK2007);湖南省中医药科研计划重点项目(A2023005)

**第一作者:**周诗施,女,研究方向:药品检验、药事管理

**通信作者:**彭艳梅,女,研究员,硕士研究生导师,研究方向:中药新药的开发研究,E-mail:271853145@qq.com

胥新元,男,主任药师,研究方向:中药炮制研究,E-mail:382797549@qq.com

and fingerprint, and within the dose of 10 kGy, there was no significant change in the properties of *Carthamus tinctorius* after  $^{60}\text{Co}-\gamma$  irradiation or electron beam irradiation. Low-dose (2 kGy) irradiation could meet the national drug hygienic standard for total bacterial count, and after 3 months of storage, the observation showed that total microbial count decreased with the increase in irradiation dose, suggesting that the increase in irradiation dose might help with the storage of *Carthamus tinctorius* crude drug powder and that  $^{60}\text{Co}-\gamma$  irradiation had a better sterilization effect than electron beam irradiation under the same dose. Conclusion: After  $^{60}\text{Co}-\gamma$  irradiation or electron beam irradiation at a dose of 2, 6, 8, and 10 kGy, there is no significant change in *Carthamus tinctorius* crude drug powder within the dose of 10 kGy. There is a certain change in the content of hydroxysafflor yellow A after  $^{60}\text{Co}-\gamma$  irradiation at a dose of 10 kGy, and therefore, the dose of  $^{60}\text{Co}-\gamma$  irradiation should be controlled within the range of 0-8 kGy.

[**Keywords**] *Carthamus tinctorius*; crude drug powder; irradiation sterilization; process; experimental study

红花(*Carthamus tinctorius* L.)为菊科植物红花的干燥管状花药,主要成分为黄酮、生物碱、多糖等。红花用药历史悠久,具有活血通经、散瘀止痛等功效,是临床应用的活血药<sup>[1-4]</sup>,主要用于治疗心血管疾病、调节免疫系统、抗氧化、抗肿瘤、抗炎症、抗凝等<sup>[5-6]</sup>。作为我国贵细中药材,在成方制剂和单味制剂中大多以生粉入药,因此极易致微生物和致病菌超标。近年来,辐照灭菌作为一种“冷灭菌”技术,在中药饮片、中成药的生产中应用越来越广泛,该灭菌方法具有穿透力强、成本低、耗能少,且辐照源不直接接触药品,在灭菌过程中温度变化小,尤适宜热敏性中药及挥发性成分的灭菌,在中药灭菌应用中具有明显优势和广泛应用前景<sup>[7-10]</sup>。为指导和规范辐照技术在中药灭菌中的应用,保证中药质量,本研究选择红花作为研究载体,探讨其辐照灭菌工艺,从而为辐照灭菌应用于其他中药奠定基础,为中药辐照灭菌的科学监管提供技术支持。

## 1 仪器与试剂

1.1 仪器 AL204 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器有限公司;101-2AB 型电热恒温鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;KQ3200 型超声清洗机,昆山市超声仪器有限公司;DZTW 型调温电热套,北京市永光明医疗仪器厂;Thermo UltiMate 3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技有限公司;LDZX-75KBS 立式压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;XPE105 电子天平,赛多利斯科学仪器北京有限公司。

1.2 试剂 红花由湖南衡岳中药饮片有限公司提供,经湖南省中医药研究院生药室鉴定均符合规定;羟基红花黄色素 A 对照品(批号:CHB201114,纯度:HPLC $\geq$ 98%);山柰酚对照品(批号:CHB201213,纯

度:HPLC $\geq$ 98%);以上标准品由成都克洛玛生物科技有限公司提供。乙腈(色谱级,货号:34851)由 Sigma 提供,其他试剂为分析级试剂,水为纯化水。

## 2 方法与结果

2.1 灭菌处理  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照在湖南辐照中心进行,电子束辐照在湖南湘华华大生物科技有限公司进行。红花辐照剂量设定为 2、4、6、8、10 kGy,以未辐照样品为对照。所有样品均设置 3 个平行样。

2.2 微生物检测 红花作为生药粉直接给药,参照《中华人民共和国药典·四部》<sup>[11]</sup>中微生物检查法,根据前期试验确定的主要微生物种类进行微生物检测。按照《中华人民共和国药典·四部》<sup>[11]</sup>附录中“1105 非无菌产品微生物限度检查:微生物计数法”和“1106 非无菌产品微生物限度检查:控制菌检查法”的要求检测需氧菌总数,霉菌、酵母菌计数,耐胆盐革兰阴性菌、大肠埃希菌、沙门菌等控制菌。按照“1107 非无菌药品微生物限度标准”进行判断。

## 2.3 含量测定

2.3.1 羟基红花黄色素 A 1) 色谱条件。色谱柱:sepax Bio-C<sub>18</sub>(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相:甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液(26:2:72);流速:1.0 ml/min;检测波长:403 nm,柱温:25 $^{\circ}\text{C}$ 。2) 对照品溶液的制备。参照《中华人民共和国药典·一部》<sup>[12]</sup>取羟基红花黄色素 A 对照品 13.05 mg,制备成每 1 ml 含 1.305 mg 的母液,使用时稀释 10 倍即得。3) 供试品溶液的制备。取本品粉末(过三号筛)约 0.4g,平行 2 份,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 25% 甲醇 50 ml,称定质量,超声处理(功率 300W,频率 50 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用 25% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤

液,即得。

2.3.2 山柰酚 1) 色谱条件。色谱柱:kromasil 100-5-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm);流动相:甲醇-0.4%磷酸溶液(52:48);流速:1.0 ml/min;检测波长:367 nm,柱温:25℃。2) 对照品溶液的制备。参照《中华人民共和国药典·一部》<sup>[12]</sup>取山柰酚对照品9.07 mg,制备成每1 ml含0.907 mg的母液,使用时稀释100倍即得。3) 供试品溶液的制备。取本品粉末(过三号筛)约0.5 g,平行2份,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,称定质量,加热回流30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液15 ml,置平底烧瓶中,加盐酸溶液(15→37)5 ml,摇匀,置水浴中加热水解30 min,立即冷却,转移至25 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 指纹图谱测定 1) 色谱条件。色谱柱:ALLtima C<sub>18</sub>(5 μm,4.6 mm×250 mm),流动相:乙腈(A)-0.5%磷酸水溶液(B),洗脱方式:梯度洗脱0~5 min,95% A;5~15 min,95%~92% A;15~20 min,92% A;20~30 min,92%~87% A;30~35 min,87% A;35~40 min,87%~82% A;45~50 min,82% A;50~60 min,82%~75% A;60~65 min,75% A;65~75 min,75%~0 A;检测波长:280 nm,处理方法:水,柱温:25℃,进样量:10 μl,流速:1.0 ml/min。2) 供试品溶液的制备。精密称取红花粉末0.5 g,平行2份,置具塞锥形瓶中,精密加入纯水20 ml,称定质量,超声处理30 min,取出后放冷,再称定质量,用纯水补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.5 不同辐照灭菌方法对红花性状的影响 红花粉末性状规范为“本品粉末橙黄色,气微香,味微苦”,经不同辐照源、不同辐照剂量处理后的红花粉末性状变化差异不明显。(见图1、2)



图 1-3 <sup>60</sup>Co-γ 辐射(4 kGy)

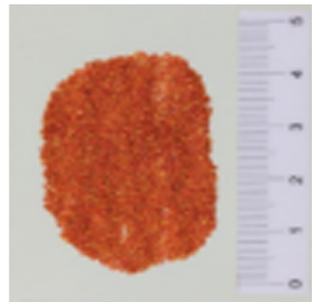


图 1-4 <sup>60</sup>Co-γ 辐射(6 kGy)



图 1-5 <sup>60</sup>Co-γ 辐射(8 kGy)

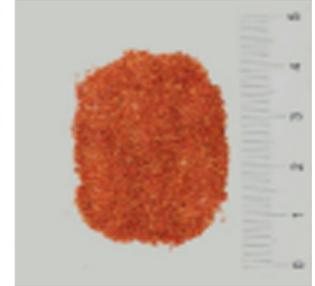


图 1-6 <sup>60</sup>Co-γ 辐射(10 kGy)

图 1 不同剂量<sup>60</sup>Co-γ 辐照后红花性状



图 2-1 未辐照

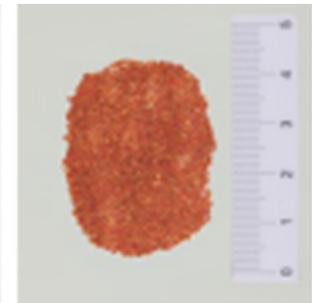


图 2-2 电子束辐射(2 kGy)

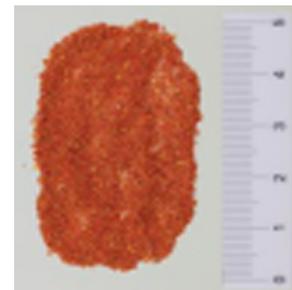


图 2-3 电子束辐射(4 kGy)

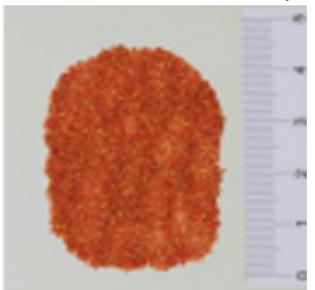


图 2-4 电子束辐射(6 kGy)

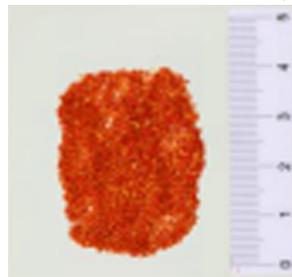


图 2-5 电子束辐射(8 kGy)

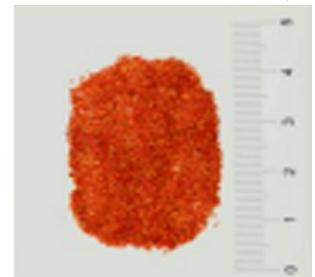


图 2-6 电子束辐射(10 kGy)

图 2 不同剂量电子束辐照后红花性状

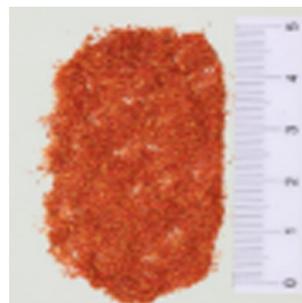


图 1-1 未辐照

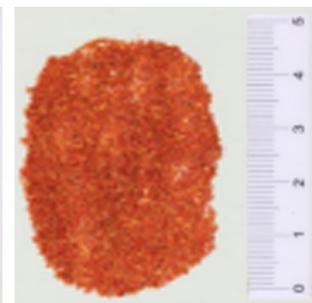


图 1-2 <sup>60</sup>Co-γ 辐射(2 kGy)

## 2.6 不同辐照灭菌方法对红花微生物限度的影响

2.6.1 灭菌前后0个月微生物情况 将红花粉末样品分别以2、4、6、8、10 kGy的辐照剂量进行 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照和电子束辐照灭菌操作,灭菌后同“2.2项”下微生物检测法检查。

2.6.1.1  $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照 红花样品经2 kGy  $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌后能达到国家药品卫生标准细菌总数(每1g不超过1000 cfu/g,每1 ml不超过100 cfu/g,不得检出控制菌)。(见表1)

表1 红花 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌前后0个月微生物情况( $\bar{x}\pm s, \text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ )

剂量	需氧菌	霉菌、酵母菌	控制菌
未辐照	430000.00±10.51	400000.00±16.49	未检出
2 kGy	90.00±3.45	80.00±2.60	未检出
4 kGy	<10.00	<10.00	未检出
6 kGy	<10.00	<10.00	未检出
8 kGy	<10.00	<10.00	未检出
10 kGy	<10.00	<10.00	未检出

2.6.1.2 电子束辐照 红花样品经电子束辐照灭菌后达到国家药品卫生标准细菌总数的辐照剂量为4 kGy。(见表2)

表2 红花电子束辐照灭菌前后0个月微生物情况( $\bar{x}\pm s, \text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ )

剂量	需氧菌	霉菌、酵母菌	控制菌
未辐照	430000.00±8.39	400000.00±4.75	未检出
2 kGy	8800.00±9.54	4800.00±7.83	未检出
4 kGy	35.00±0.57	55.00±0.32	未检出
6 kGy	<10.00	<10.00	未检出
8 kGy	<10.00	<10.00	未检出
10 kGy	<10.00	<10.00	未检出

2.6.2 灭菌后3个月微生物情况 辐照灭菌后所有样品分别以2、4、6、8、10 kGy分开贮藏至通风、干燥、阴凉处,贮藏温度保持在18~21℃,贮藏湿度保持34%~45%,所有样品平行3份,每份20g,贮藏3个月后检测微生物含量。

2.6.2.1  $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照 贮藏3个月之后,微生物滋生,需氧菌、霉菌和酵母菌总数增加,红花样品经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照后符合国家药品卫生标准细菌总数所需剂量为4 kGy。(见表3)

2.6.2.2 电子束辐照 贮藏3个月之后,红花样品经电子束辐照后符合国家药品卫生标准细菌总数所需剂量为4 kGy。(见表4)

表3 红花 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌后贮藏3个月微生物情况( $\bar{x}\pm s, \text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ )

剂量	需氧菌	霉菌、酵母菌	控制菌
2 kGy	35000.00±7.34	10360.00±5.29	未检出
4 kGy	170.00±2.31	130.00±1.12	未检出
6 kGy	120.00±2.00	30.00±1.24	未检出
8 kGy	<20.00	<20.00	未检出
10 kGy	<20.00	<20.00	未检出

表4 红花电子束辐照灭菌后贮藏3个月微生物情况( $\bar{x}\pm s, \text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ )

剂量	需氧菌	霉菌、酵母菌	控制菌
2 kGy	38000.00±5.31	<20.00	未检出
4 kGy	<20.00	<20.00	未检出
6 kGy	<20.00	<20.00	未检出
8 kGy	<20.00	<20.00	未检出
10 kGy	<20.00	<20.00	未检出

2.7 红花药典成分含量测定 红花主要以生粉入药,《中华人民共和国药典·一部》<sup>[12]</sup>红花药材项下[含量测定]中建立了羟基红花黄色素A和山柰酚含量测定的方法;采用《中华人民共和国药典·一部》<sup>[12]</sup>中红花含量测定方法对羟基红花黄色素A和山柰酚进行含量测定。分取红花经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 和电子束辐照剂量0、2、4、6、8、10 kGy的粉末,采用“2.3项”下红花含量测定方法对羟基红花黄色素A和山柰酚进行含量测定。结果显示,通过含量测定,红花原生药粉中羟基红花黄色素A、山柰酚的含量经不同剂量 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照和电子束辐照灭菌后均高于1.0%、0.050%,符合《中华人民共和国药典·一部》<sup>[12]</sup>标准。辐照灭菌后,红花中羟基红花黄色素A和山柰酚含量均低于未辐照样品,且随着辐照剂量的增加含量递减。(见表5~8)

## 2.8 指纹图谱研究

2.8.1 指纹图谱测定 取不同辐射源、不同辐射剂量红花粉末作为样本进行指纹图谱研究,将不同辐射源、不同辐射剂量红花指纹图谱的AIA数据文件导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2012年版A版相似度软件,采用多样本平均数矢量综合作为共有模式矢量,时间宽度设定为0.10,多点校正后,确定16个主要的色谱特征峰,选取峰面积较大的10号峰作为参照峰,计算各色谱峰的相似度及相对保留时间与相对峰面积。(见图3、4)

表 5  $^{60}\text{Co}-\gamma$  射线辐射后羟基红花黄色素 A 含量测定结果 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

地区	未辐照	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy
云南	4.34±0.15	3.89±0.06	3.87±0.08	3.91±0.10	3.88±0.05	3.85±0.13
甘肃	4.13±0.21	3.52±0.05	3.59±0.02	3.47±0.06	3.48±0.04	3.51±0.10
四川	4.19±0.13	2.81±0.19	2.79±0.03	2.80±0.19	2.81±0.02	2.84±0.09
新疆维吾尔自治区	4.17±0.06	3.65±0.13	3.64±0.06	3.60±0.09	3.53±0.04	3.44±0.06

表 7  $^{60}\text{Co}-\gamma$  射线辐射后山柰酚含量测定结果 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

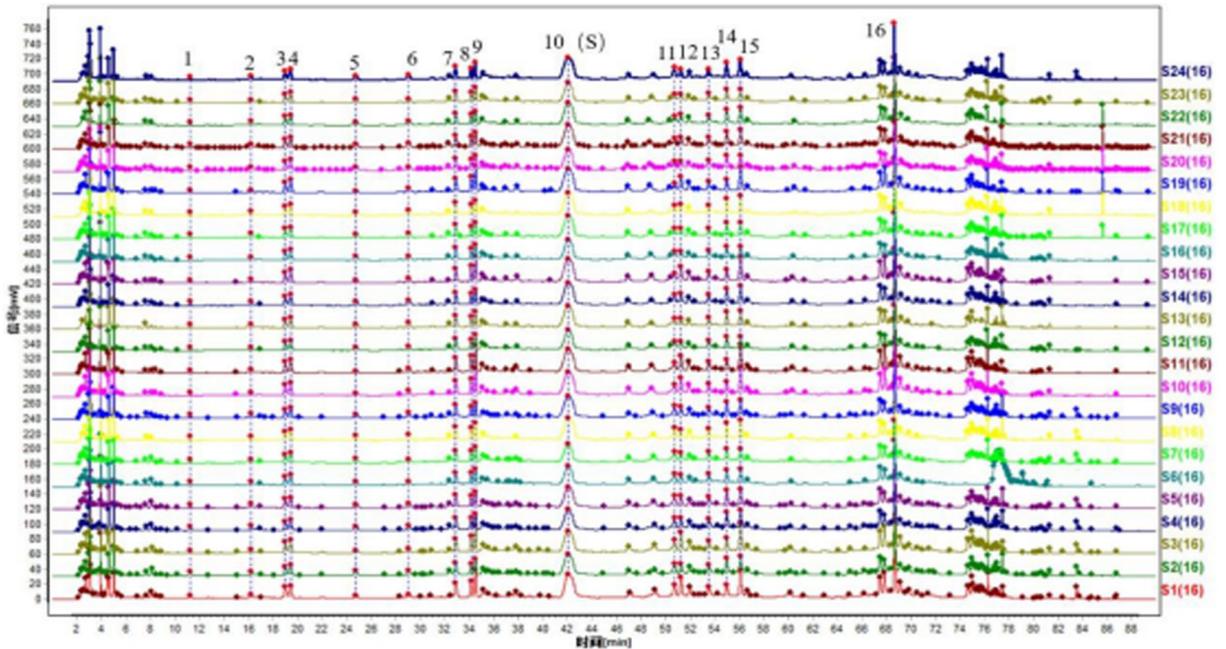
地区	未辐照	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy
云南	0.40±0.02	0.34±0.13	0.34±0.09	0.35±0.07	0.34±0.06	0.33±0.06
甘肃	0.27±0.06	0.22±0.03	0.22±0.11	0.22±0.09	0.22±0.03	0.22±0.03
四川	0.27±0.09	0.22±0.06	0.22±0.03	0.23±0.05	0.23±0.03	0.23±0.07
新疆维吾尔自治区	0.25±0.09	0.24±0.02	0.24±0.04	0.23±0.06	0.23±0.12	0.23±0.09

表 6 电子束射线辐射后羟基红花黄色素 A 含量测定结果 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

地区	未辐照	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy
云南	4.34±0.09	3.52±0.05	3.51±0.13	3.86±0.08	3.98±0.11	3.81±0.06
甘肃	4.13±0.02	3.17±0.06	3.18±0.10	3.52±0.08	3.37±0.02	3.49±0.01
四川	4.19±0.07	2.44±0.13	2.43±0.09	2.79±0.09	2.95±0.01	2.83±0.03
新疆维吾尔自治区	4.17±0.11	3.17±0.12	3.19±0.05	3.50±0.05	3.49±0.06	3.38±0.07

表 8 电子束射线辐射后山柰酚含量测定结果 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

地区	未辐照	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy
云南	0.40±0.06	0.34±0.05	0.34±0.04	0.34±0.04	0.34±0.06	0.34±0.01
甘肃	0.27±0.03	0.22±0.04	0.22±0.02	0.23±0.02	0.23±0.05	0.24±0.10
四川	0.27±0.03	0.23±0.06	0.23±0.04	0.23±0.10	0.22±0.06	0.23±0.04
新疆维吾尔自治区	0.25±0.04	0.24±0.07	0.24±0.06	0.24±0.08	0.24±0.09	0.23±0.08

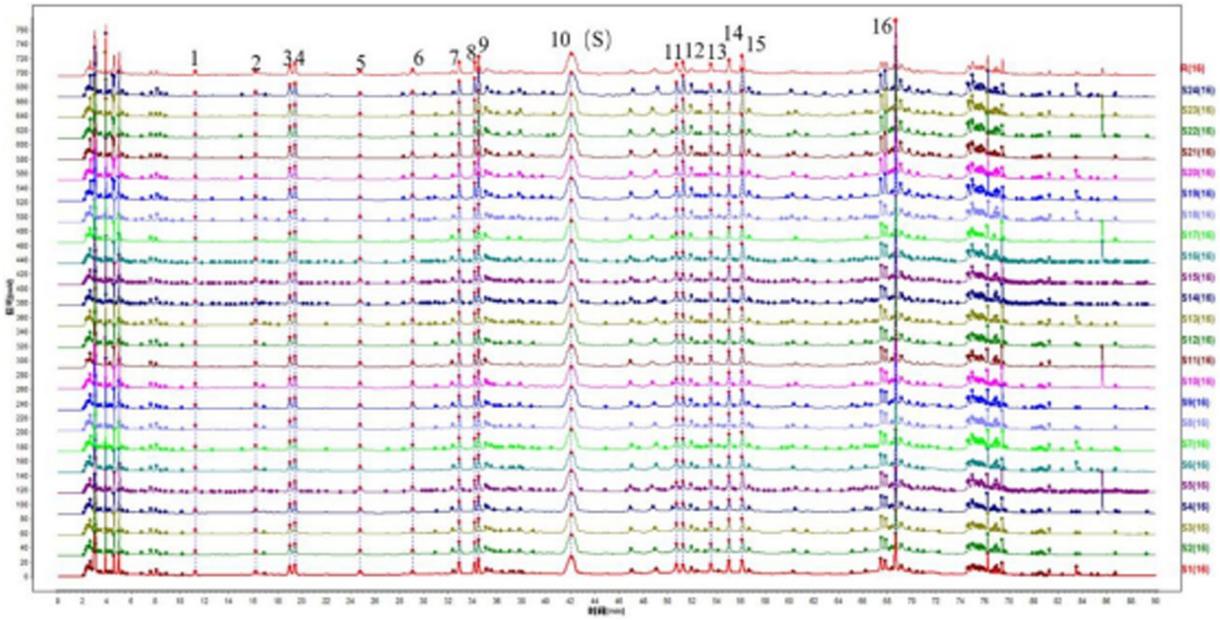


注: S1~S4 为未辐照; S5~S8 为辐照剂量 2 kGy; S9~S12 为辐照剂量 4 kGy; S13~S16 为辐照剂量 6 kGy; S17~S20 为辐照剂量 8 kGy; S21~S24 为辐照剂量 10 kGy。

图 3 不同剂量  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照红花 HPLC 指纹图谱

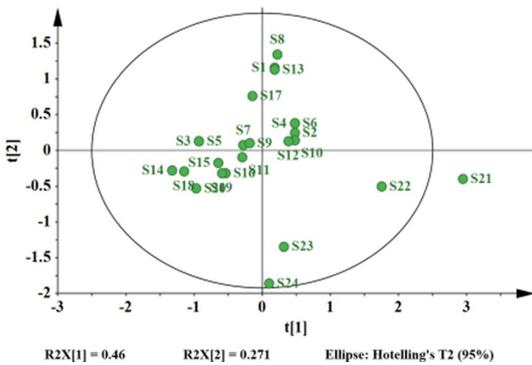
2.8.2 化学模式识别分析 采用变量统计分析软件 SIMAC 14.1, 进行无监督分析中的主成分分析 (PCA) 和聚类分析 (CA)。以 24 批红花样品特征图谱中所得的共有峰峰面积为变量, 构建 24×16 的原始数据矩阵, 数据预处理方式采用 Pareto Scaling, 得到 PCA 得分图见图 5、7、特征值及方差贡献率表见表 9、10, 然后将特征值大于 1 提取的主成分, 采用 Ward 聚类法进行 CA, 得到红花药材的分类结果 (见图 6、8)。

2.8.2.1  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照 由表 9 可知, PC1、PC2 和 PC3 的特征值 > 1, 其累积方差贡献率为 86%, 能较好的表征原始数据信息, 因此该 PCA 分析模型较准确。从 PCA 得分图看, S21~S24 样品点与其他样品点有明显分离趋势, 其余样品点均在 95% 的置信区间内 (见图 5)。同时在红花  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照聚类分析图中, S21~S24  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照 10 kGy 剂量组呈现明显分类, 说明红花  $^{60}\text{Co}-\gamma$  辐照剂量不应大于 10 kGy (见图 6)。



注:S1~S4为未辐照;S5~S8为辐照剂量2 kGy;S9~S12为辐照剂量4 kGy;S13~S16为辐照剂量6 kGy;S17~S20为辐照剂量8 kGy;S21~S24为辐照剂量10 kGy。

图4 不同剂量电子束辐照红花 HPLC 指纹图谱



注:S1~S4为未辐照;S5~S8为辐照剂量2 kGy;S9~S12为辐照剂量4 kGy;S13~S16为辐照剂量6 kGy;S17~S20为辐照剂量8 kGy;S21~S24为辐照剂量10 kGy。

图5 红花<sup>60</sup>Co-γ辐照主成分得分图

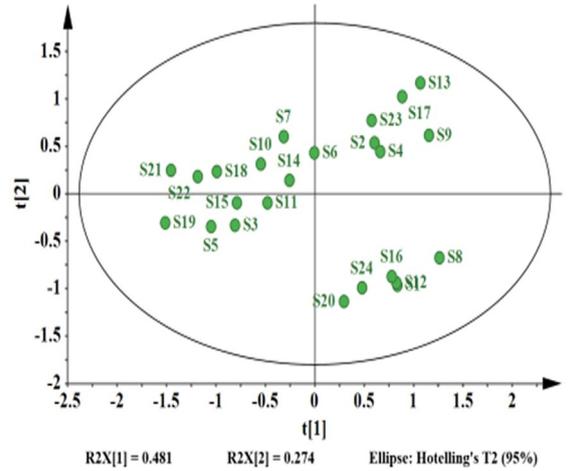
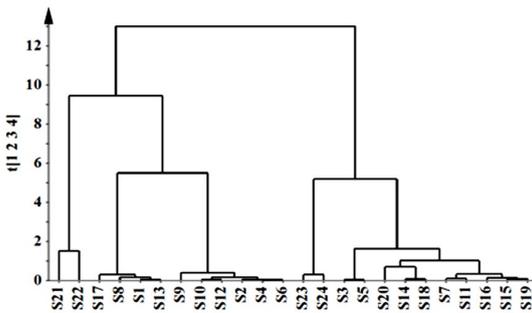


图7 红花电子束辐照主成分得分图



注:S1~S4为未辐照;S5~S8为辐照剂量2 kGy;S9~S12为辐照剂量4 kGy;S13~S16为辐照剂量6 kGy;S17~S20为辐照剂量8 kGy;S21~S24为辐照剂量10 kGy。

图6 红花<sup>60</sup>Co-γ辐照聚类分析图

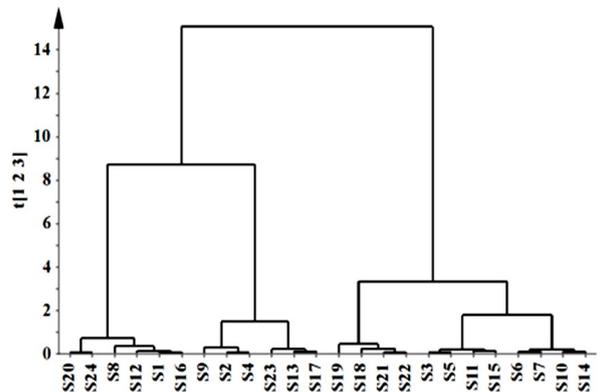


图8 红花电子束辐照聚类分析图

表 9 红花<sup>60</sup>Co-γ 辐照 PAC 特征值及方差贡献率

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	7.36000	0.46000	0.460
2	4.34000	0.27100	0.731
3	2.07000	0.12900	0.860
4	0.85200	0.05320	0.913
5	0.41000	0.02560	0.939
6	0.29600	0.01850	0.958
7	0.20300	0.01270	0.970
8	0.19200	0.01200	0.982
9	0.11900	0.00743	0.990
10	0.07910	0.00494	0.995
11	0.04510	0.00282	0.997
12	0.02920	0.00183	0.999
13	0.00606	0.000378	1
14	0.00293	0.000183	1
15	0.00170	0.000106	1
16	0.00104	6.52e-005	1

2.8.2.2 电子束辐照 由表 10 可知, PC1、PC2 和 PC3 的特征值>1, 其累积方差贡献率为 87.2%, 能较好的表征原始数据信息, 因此该 PCA 分析模型较准确。从 PCA 得分图看(见图 7), 所有样品点均在 95% 的置信区间内, 说明无异常样品点, 图 8 中显示红花样品按剂量不分类, 结果与 PCA 一致, 因此可认为 24 批次红花样品随“剂量”这一因素无较好的聚类趋势。

表 10 红花电子束辐照 PAC 特征值及方差贡献率

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	7.22	0.451	0.451
2	4.69	0.293	0.744
3	2.05	0.128	0.872
4	0.723	0.0452	0.917
5	0.461	0.0288	0.946
6	0.335	0.0209	0.967
7	0.218	0.0136	0.981
8	0.153	0.00958	0.99
9	0.0901	0.00563	0.996
10	0.0323	0.00202	0.998
11	0.0166	0.00104	0.999
12	0.00973	0.000608	1
13	0.00361	0.000226	1
14	0.00219	0.000137	1
15	0.000378	2.36e-005	1
16	4.61e-008	0	1

### 3 讨 论

通过对红花生药粉辐照灭菌工艺的研究, 最终总结出以下几方面。1) 性状方面: 不同辐射源、不同辐射剂量辐照灭菌对红花性状影响不显著; 2) 灭菌效果: <sup>60</sup>Co-γ 射线辐照>电子束射线辐照, 电子束射线辐照灭菌达到需氧菌、霉菌和酵母菌、耐热菌均≤10 cfu/g 所需的辐照剂量高于<sup>60</sup>Co-γ 射线辐照灭菌; 3) 成分含量: 经辐照灭菌后, 红花主要成分均下降, 随着辐照剂量增加, 羟基红花黄色素 A 和山柰酚的成分含量波动幅度小, 分别在 0.2%~0.05% 之间, 在 10 kGy 剂量内, 辐照剂量对红花主要成分含量影响小; 4) 指纹图谱: 对比不同辐射源、不同辐射剂量红花原生药粉的指纹图谱、相对保留时间、相对峰面积、主成分分析和聚类分析结果, 红花生药粉经 2、6、8、10 kGy <sup>60</sup>Co-γ 辐照和电子束辐照后, 红花指纹图谱 8 个峰的相对保留时间 RSD 相差较大, 这可能与进样时间相关, 样品进样量多处理时间长, 进样时间不在同一时间段。主成分分析和聚类分析结果表明, 红花<sup>60</sup>Co-γ 辐照 10 kGy 呈现明显分类, 其余剂量分类不明显, 说明红花经 10 kGy 的<sup>60</sup>Co-γ 辐照后产生不可忽略变化, 因此辐照剂量应低于 10 kGy。红花电子束辐照 10 kGy 内变化差异不显著。

综上所述, <sup>60</sup>Co-γ 射线辐照灭菌彻底, 灭菌过程温度变化小, 对物料性状、成分影响小, 红花原生药粉的灭菌方法应优选<sup>60</sup>Co-γ 射线辐照。《中药辐照灭菌技术指导原则》中指出辐照剂量越大, 辐照效果越好, 但同时药品质量产生的影响也可能越大, 红花初始载菌量大, 故辐照剂量确定为 6 kGy<sup>[13]</sup>。

辐照灭菌操作简便、速度快、可在常温下进行, 而随着辐照商业化和辐照技术越来越成熟, 越来越多的中药选用辐照进行灭菌, 但大剂量辐照会引起个别中药化学成分、生物活性的变化。对于不同的药材和成品, 其最佳的辐照剂量也不同, 既能达到灭菌效果又能保持有效成分和疗效的辐照剂量应通过实验来确定。通过研究红花原生药粉辐照灭菌系列研究来确定原生药粉的最佳辐照剂量, 为企业进行原生药粉灭菌提供参考, 为推动中药辐照灭菌成为中药生产过程中不可或缺的重要技术手段提供研究基础。

- [43] 程华初,程婉红,王芳婷,等. 降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠血清常规的影响[J]. 湖南中医杂志, 2018,34(10):164-167.
- [44] BUGIANESI E, MOSCATIELLO S, CIARAVELLA MF, et al. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Curr Pharm Des, 2010, 16: 1941-1951.
- [45] GUILHERME A, VIRBASIUS JV, PURI V, et al. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008(9):367-377.
- [46] 陈君,陈常云,李艳萍,等. 疏肝健脾消脂颗粒联合健康管理对代谢相关脂肪性肝病患者内脏脂肪面积、超敏C反应蛋白的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(11): 1035-1037.
- [47] 杨雅明. 抗脂益肝汤联合二甲双胍对非酒精性脂肪肝患者胰岛素、瘦素抵抗的影响[J]. 吉林医学, 2022, 43(6): 1550-1551.
- [48] HETZ C, ZHANG K, KAUFMAN R. Regulation and functions of the unfolded protein response[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(8):421-438.
- [49] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:229.
- [50] 龚杰,丁岩,干仲元,等. 泽泻提取物对大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(7): 68-76.
- [51] SUNNY NE, BRIL F, CUSI K. Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: Novel mechanisms and treatment strategies[J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28:250-260.
- [52] 陈恋虹,林海,余甘树,等. 肝康宁对非酒精性脂肪肝小鼠的治疗作用[J]. 海峡药学, 2019, 31(9): 43-45.
- [53] 黄玉影,李常青,陈斯泰,等. 荔枝核有效部位群对实验性非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制[J]. 广州中医药大学学报, 2016, 33(3): 346-352.
- [54] QUESADA-VÁZQUEZ S, ARAGONÈS G, DEL BAS J M, et al. Diet, gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: Three parts of the same axis[J]. Cells, 2020, 9(1): 176.
- [55] 谢维宁,彭红兵,李焯,等. 柴胡疏肝散对肝郁脾虚型非酒精性脂肪肝患者的临床疗效及肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 129-137.
- [56] 于泽鹤,彪雅宁,张睦清,等. 当归芍药散防治非酒精性脂肪肝作用与肠道微生态的相关性研究[J]. 河北中医学报, 2021, 36(4): 1-5.
- [57] 贺晶霞,安秀琴,刘迎春. 自噬相关信号分子在非酒精性脂肪性肝病中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(9): 2220-2224.
- [58] 徐昆,石清兰,胡振斌,等. 外泌体在非酒精性脂肪性肝病发生发展中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(10): 2478-2481.
- [59] 徐慧超,陈浩,高艳,等. 非酒精性脂肪性肝病的表现遗传机制研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(17): 39-41.
- [60] 孔光耀,蒋锋,刘丽萍,等. 气体信号分子在非酒精性脂肪性肝病中的作用机制研究进展[J]. 中国医药导报, 2022, 19(30): 45-49.
- [61] 刘鸣昊,刘素彤,张丽慧,等. 铁死亡的发生机制及其在非酒精性脂肪性肝病/非酒精性脂肪性肝炎发生发展中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(5): 1152-1155.
- [62] 韩智,沈越利,荀浩. 昼夜节律紊乱与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(12): 1150-1152.

(收稿日期:2023-01-08)

[编辑:徐琦]

(上接第195页)

### 参考文献

- [1] 白皓天,杨婧,李娅兰,等. 基于指纹图谱与化学模式识别的红花药材质量评价[J]. 中药材, 2022, 45(10): 2432-2436.
- [2] 郑东方,陈鑫伟,吕树立. 药食两用红花研究进展及开发利用前景[J]. 南方农业, 2022, 16(23): 111-115.
- [3] 何昌芬,杨晓琳,孙好强,等. 微波消解-ICP-MS法测定不同产地红花中9种无机元素的含量[J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(3): 521-526.
- [4] 赵芮,李馨蕊,李雷,等. 红花化学成分及其抑制子宫平滑肌收缩作用[J]. 中成药, 2022, 44(7): 2171-2176.
- [5] 白皓天,李娅兰,牛捷,等. 基于CiteSpace对红花研究进展及未来趋势的可视化分析[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(23): 3070-3078.
- [6] 郭继娜,刘圣红. 不同产地红花主要成分比较研究[J]. 特产研究, 2022, 44(4): 116-120.
- [7] 王强,杨仲秋,蒋继成,等.  $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对黄连有效成分的影响[J]. 黑龙江科学, 2013(6): 37-39.
- [8] 孙熙洽,齐欣,崔承弼. 辐照红景天乙醇提取物的抗氧化作用及美白作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(23): 325-331.
- [9] 游强秦,李雪松,贺云杰,等. 人参等中药材辐照灭菌前后质量对比研究[J]. 天津药学, 2017, 29(5): 15-21.
- [10] 李奉勤,史冬霞,马振嗣,等. 探讨 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对蜈蚣等5种虫类药材灭菌效果的影响[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(11): 2348-2349.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·四部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- [13] 白洁,迟玉明,金红宇,等. 《中药辐照灭菌技术指导原则》解读[J]. 中成药, 2017, 39(7): 1537-1538.

(收稿日期:2023-06-23)

[编辑:刘珍]