

^{60}Co - γ 射线辐照对小儿清肺丸中 5 种有效成分的影响

徐放^{1,2}, 朴善花¹, 李明珠², 孙阳², 王艳杰², 梁颖², 安铁洙^{1*}

1. 东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学基础医学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 建立同时测定小儿清肺丸中葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 5 种活性成分含量的方法, 考察 ^{60}Co - γ 射线辐照前后有效成分含量的变化。**方法** 采用 Agilent-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 为甲醇-乙腈 (1:1), B 为 0.5% 冰醋酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长分别为 230、321 nm, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 。分别选择辐照剂量为 2、4、6、8 kGy 对小儿清肺丸进行辐照, 比较辐照前后小儿清肺丸中 5 种活性成分含量的变化, 并进行成组 t 检验考察其显著情况。**结果** 葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 分别在 0.049~1.247、0.079~1.973、0.056~1.406、0.028~0.705、0.028~0.693 μg 有良好线性关系, 平均加样回收率分别为 101.2%、99.7%、99.9%、98.9%、100.5%, RSD 分别为 0.6%、0.5%、1.2%、1.1%、1.2%; 经过 2、4、6、8 kGy 辐照后, 小儿清肺丸所含有效成分葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 均有变化, 经成组 t 检验, 在超过 6 kGy 后, 葫芦素 B 辐照前后含量变化显著 ($P<0.05$)。**结论** 所建立的小儿清肺丸活性成分测定方法回收率高, 重复性好, 简单实用, 可作为小儿清肺丸质控方法。在辐照剂量不超过 6 kGy 时, 各成分变化不显著, 可为小儿清肺丸辐照灭菌手段提供参考。

关键词: 小儿清肺丸; ^{60}Co - γ 射线; 葫芦素 B; 葫芦素 E; 白花前胡甲素; 白花前胡乙素; 白花前胡素 E

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)17-4058-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.17.014

Effect of ^{60}Co - γ ray irradiation on five active ingredients in Infantile Qingfei Pills

XU Fang^{1,2}, PIAO Shan-hua¹, LI Ming-zhu², SUN Yang², WANG Yan-jie², LIANG Ying², AN Tie-zhu¹

1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2. College of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: **Objective** To establish HPLC method for simultaneous determination of five active ingredients of cucurbitacin B, cucurbitacin E, praeruptorin A, praeruptorin B, and praeruptorin E in Infantile Qingfei Pills (IQP), and study the contents changes of the five effective components in IQP before and after ^{60}Co - γ ray irradiation. **Methods** The Agilent-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted and the detection wavelength was 230 nm and 321 nm with the flow rate of 1.0 mL/min. The mobile phase consisted of A (methanol: acetonitrile) and B (0.5% glacial acetic acid solution) for gradient elution, and column temperature was 25 $^{\circ}\text{C}$. Irradiation doses of 2, 4, 6, 8 kGy were selected to irradiate IQP respectively. The contents of five active components in IQP were compared before and after irradiation, and the significant condition was observed by t -test. **Results** The linear range of cucurbitacin B, cucurbitacin E, praeruptorin A, praeruptorin B, and praeruptorin E were 0.049—1.247, 0.079—1.973, 0.056—1.406, 0.028—0.705, and 0.028—0.693 μg . The average recovery were 101.2%, 99.7%, 99.9%, 98.9%, and 100.5%, and RSD were 0.6%, 0.5%, 1.2%, 1.1%, and 1.2%, respectively. After irradiation of 2, 4, 6, and 8 kGy, the effective components contents of cucurbitacin B, cucurbitacin E, praeruptorin A, praeruptorin B, and praeruptorin E were changed. After t -test in groups, the content change of cucurbitacin B was significantly after irradiation over 6 kGy ($P<0.05$). **Conclusion** The established method has a high recovery rate, good repeatability, which is simple and practical and can be used for quality control of IQP. The changes of each component are not significant with the radiation no more than 6 kGy, which can provide a reference for the sterilization of IQP.

Key words: Infantile Qingfei Pills; ^{60}Co - γ ray; cucurbitacin B; cucurbitacin E; praeruptorin A; praeruptorin B; praeruptorin E

收稿日期: 2018-03-02

作者简介: 徐放 (1981—), 男, 讲师, 研究方向为中药抗肿瘤、天然产物分析。Tel: 13904819342

*通信作者 安铁洙 (1958—), 男, 教授, 研究方向为胚胎移植、转基因。Tel: 18646005092 E-mail: antiezh@qq.com

中成药的药材原粉及制作工艺较复杂,生产过程中容易受各种微生物的污染,影响制剂成品的质量^[1-2]。生产实践中常用的灭菌方法有微波干燥灭菌^[3]、湿热灭菌、⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌、干热灭菌^[4]等,中药成分大多不稳定,易受温度、湿度及压力等因素影响,导致药品质量下降,从而使药效降低。⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌法具有穿透力强、低廉、节能、不破坏原包装、灭菌效果好、常温、对大规模生产实用性高等特点,近年来得到越来越广泛的应用^[5-8]。

小儿清肺丸源自《卫生部药品标准中药成方制剂第十九册》,由天花粉、前胡、桑白皮、苦杏仁、枳壳、甘草、黄芩等15味药材原粉加工而成,具有宣肺解表、止咳化痰的功效,临床上主要用于急性气管炎、风热感冒、咳嗽、吐白黏痰或黄稠痰等症状^[9]。方中天花粉、前胡为君药;天花粉为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 或双边栝楼 *Trichosanthes rosthornii* Harms 的干燥根,主要用于热病烦渴、肺热燥咳、内热消渴、疮疡肿毒,其主要活性成分为葫芦素B和葫芦素E等葫芦素类四环三萜类化合物^[10-11];前胡为伞形科植物白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunm 的干燥根,主要用于痰热喘满、咯痰黄稠、风热咳嗽痰多,其主要活性成分为白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素E等香豆素类化合物^[12-13]。目前质量标准中仅对该制剂的性状和丸剂项下的通则检查作了规定,未对制剂中的成分进行定性、定量测定。本研究采用⁶⁰Co- γ 射线辐照对小儿清肺丸进行消毒灭菌,并建立同时测定小儿清肺丸中5种有效成分葫芦素B、葫芦素E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素E的含量检测方法,分别考察2、4、6、8 kGy 4种辐照剂量对有效成分含量的影响,比较辐照前、后含量变化,并确定最佳有效辐照强度条件,为小儿清肺丸的生产灭菌提供参考。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Agilent1260 高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司,包括 G1311A 四元梯度泵, G1329A 自动进样器, G1314B-DAD 检测器, G1316A 柱温箱, Agilent-Chemstation 数据处理系统; AUW-220D 电子天平,日本岛津公司;中草药粉碎机,四两装高速万能粉碎机 QE-200,浙江屹立工贸有限公司;辐照源为⁶⁰Co- γ 射线辐照设备,深圳市金鹏源辐照技

术有限公司; KQ-250DB 型数控超声波清洗器,昆山超声波仪器有限公司,功率 500 W; LRH-150B 型生化培养箱,广东省医疗器械厂; ZOZ-AB 电热恒温干燥箱,上海跃进医疗器械厂; YJ-875 型医用净化工作台,苏州净化设备厂; ElectroluxBCD-211E 冰箱,伊莱克斯(中国)电器有限公司。

1.2 材料

对照品葫芦素 B (质量分数 96.9%, 批号 111945-201301)、白花前胡甲素 (质量分数 98.8%, 批号 185145-201305)、白花前胡乙素 (质量分数 98.0%, 批号 111904-201203) 购自中国食品药品检定研究院,供含量测定用,使用前无需干燥;对照品葫芦素 E (批号 11091823, 质量分数 96%)、白花前胡素 E (批号 160327, 质量分数 98.9%), 北京普天同创生物科技有限公司;胰酪大豆胨琼脂培养基,批号 171025, 购自北京三药科技开发公司;甲醇、乙腈为色谱纯;水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

小儿清肺丸,批号 170105、170209、170313、170515、170625、170711、170809、170921、171106、171227,规格:3 g $\times$ 10 丸,天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂生产。

1.3 统计方法

以 SPSS 19.0 软件包进行统计学处理,辐照前与辐照后两样本均数用配对 *t* 检验进行处理。

2 方法

2.1 灭菌效果检查

取已辐照的小儿清肺丸粉末(过四号筛)10 g 作辐照后供试品,未经辐照的小儿清肺丸 10 g 作辐照前对照品,分别加 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100 mL,浸泡分散,充分振摇,制成 1:10 的供试液,取 1:10 的供试液 1 mL 均匀分至 5 个平皿(0.2 mL/皿),按 10 倍培养基稀释法检查;霉菌和酵母菌计数检查:取 1:10 供试液,按平皿法检查(即 1 mL/皿)。取制备好的供试液 1 mL,置直径 90 mm 的无菌平皿中,注入 15~20 mL 温度不超过 45 °C 熔化的胰酪大豆胨琼脂培养基,混匀,凝固,倒置培养,检查辐照前后需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数。结果见表 1。随着辐照剂量增加,小儿清肺丸的含菌量显著降低,可见⁶⁰Co- γ 辐照能有效除去小儿清肺丸中微生物。

2.2 溶液制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别称取葫芦素 B、

表 1 辐照前、后含菌量测定结果

Table 1 Results of bacteria level before and after irradiation

辐照剂量/ kGy	需氧菌总数 (TAMC)			霉菌和酵母菌总数 (TYMC)		
	辐照前含菌量/(cfu·g ⁻¹)	辐照后含菌量/(cfu·g ⁻¹)	成活率/%	辐照前含菌量/(cfu·g ⁻¹)	辐照后含菌量/(cfu·g ⁻¹)	成活率/%
2	199 000	486	0.24	168	26	15.48
4	165 000	85	0.05	123	8	6.50
6	121 000	1	<0.01	92	0	<0.01

葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 对照品适量, 加甲醇分别制成含葫芦素 B 0.997 8 mg/mL、葫芦素 E 1.578 2 mg/mL、白花前胡甲素 1.124 6 mg/mL、白花前胡乙素 0.563 3 mg/mL 及白花前胡素 E 0.554 7 mg/mL 的单一成分的储备液, 分别精密吸取 5.0 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

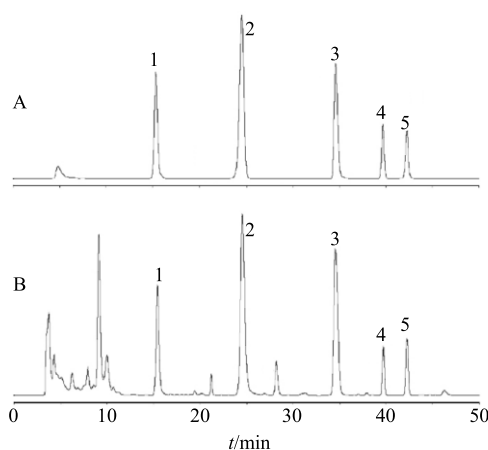
2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 剪碎, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 置冰箱中 (2~10 °C) 浸渍过夜。将装有浸渍液的锥形瓶称定质量, 超声处理 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 35 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件^[14-16]

色谱柱为 Agilent-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为甲醇-乙腈 (1:1), B 为 0.5% 冰醋酸水溶液, 按表 2 进行梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C。分别取混合对照品溶液与供试品溶液各 10 μL 注入色谱仪, 结果见图 1, 供试品和对照品出峰时间一致, 各色谱峰分离较好, 杂质峰对主峰无干扰。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1、2、5、10、15、20、25 μL, 按照“2.3”项色谱条件进行测定, 记录色谱图, 以峰面积为纵坐标 (Y), 各对照品进样量为横坐标 (X), 分别绘制各组标准曲线并进行线性回归计算。结果各组分线



1-葫芦素 B 2-葫芦素 E 3-白花前胡甲素 4-白花前胡乙素
5-白花前胡素 E
1-cucurbitacin B 2-cucurbitacin E 3-praeurptorin A
4-praeurptorin B 5-praeurptorin E

图 1 混合对照品 (A) 和小儿清肺丸供试品 (B) HPLC 图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and IQP sample (B)

性关系良好。取混合对照品溶液, 用甲醇逐步稀释, 吸取 10 μL 进行测定, 取峰面积的信噪比为 10 倍 (S/N=10) 时的对照品质量浓度为定量限 (LOQ), 回归方程及定量限见表 3。

2.4.2 精密度试验 取“2.2.1”项下的混合对照品溶液, 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 以峰面积计, 葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 的 RSD 分别为 1.1%、0.7%、1.0%、0.9%、1.2%, 说明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批 (批号 171106) 小儿清肺丸, 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行分析, 记录色谱图。结果葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 5 种成分质量分数的 RSD 分别为 1.2%、0.9%、1.1%、0.6%、0.8%, 表明重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一批 (批号 171106) 供试

表 2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	检测波长/nm
0~20	45	55	230
20~30	45~65	55~35	230
30~45	65~88	35~12	321
45~50	88~45	12~55	321

表 3 峰面积与浓度的线性关系和定量限

Table 3 Linear relation and LOQ between peak area and concentration

化合物	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ μg	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
葫芦素 B	$Y=1.806 X+2.57$	0.999 7	0.049~1.247	0.24
葫芦素 E	$Y=1.014 X+2.36$	0.999 8	0.079~1.973	0.31
白花前胡甲素	$Y=1.571 X+1.71$	0.999 5	0.056~1.406	0.08
白花前胡乙素	$Y=1.109 X-2.11$	0.999 4	0.028~0.705	0.12
白花前胡素 E	$Y=1.204 X+1.36$	0.999 2	0.028~0.693	0.04

品溶液, 分别于 0、4、8、12、16、20、24 h 吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 分别测定峰面积, 结果葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 峰面积的 RSD 分别为 0.9%、1.1%、0.6%、1.0%、0.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验 取同一批小儿清肺丸 (批号 171106) 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别精密加入葫芦素 B 对照品储备液 0.997 8 mg/mL、葫芦素 E 对照品储备液 1.578 2 mg/mL、白花前胡甲素对照品储备液 1.124 6 mg/mL、白花前胡乙素对照品储备液 0.563 3 mg/mL 和白花前胡素 E 对照品储备液 0.554 7 mg/mL 各 1.25、1.30、0.85、0.40、0.50 mL, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行分析, 记录色谱图, 计算各成分回收率。葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 的回收率在 98.07%~101.87%, 平均回收率分别为 101.2%、99.7%、99.9%、98.9%、100.5%, RSD 分别为 0.6%、0.5%、1.2%、1.1%、1.2%。

2.5 样品测定

取辐照前后小儿清肺丸 10 批 (批号 170105、170209、170313、170515、170625、170711、170809、170921、171106、171227), 分别以剂量 0、2、4、6、8 kGy 辐照处理后, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图, 分别计算葫芦素 B、葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 的含量, 结果见表 4。葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 在辐照剂量不高于 6 kGy 时含量较辐照前基本变化不大, 而葫芦素 B 受辐照强度的影响最大, 当剂量增加到 4 kGy 时, 含量降低不明显, 在 6 kGy 剂量处出现明显降低趋势。

经成组 *t* 检验, 葫芦素 E、白花前胡甲素、白

花前胡乙素和白花前胡素 E 的含量辐照前后之间差异无统计学意义 ($P>0.05$); 葫芦素 B 含量在辐照前与辐照后 (2 kGy 和 4 kGy) 也无统计学意义 ($P>0.05$), 但当剂量增加到 6 kGy 时, 葫芦素 B 的含量存在显著性差异 ($P<0.05$)。可以认为辐照前后葫芦素 E、白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 的含量变化不大, 而葫芦素 B 含量变化较大。故建议为防止葫芦素 B 降解过度, 影响小儿清肺丸的质量, 故建议 ^{60}Co - γ 射线辐照不宜高于 6 kGy。

3 讨论

白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 属于二氢吡喃香豆素, 性质较稳定^[17]。天花粉中的葫芦素 B 具有 α 、 β 酮醇结构, 性质不稳定, 在光照或加热情况下能自动氧化成葫芦素 E^[18]。

分别取供试品溶液及各对照品溶液用紫外分光光度计进行扫描测定, 结果显示白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 在 321 nm 处有最大吸收, 葫芦素 B 和葫芦素 E 在 210 nm 处有最大吸收, 且色谱图中各峰的峰形较好, 故选择在 210 nm 测定葫芦素 B 和葫芦素 E 的含量, 在 321 nm 测定白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E 的含量。

在选择流动相时, 分别考察了乙腈-水、甲醇-水、甲醇-乙腈 (1:1)-水、发现有效成分峰形拖尾, 故考虑流动相中加入冰醋酸。又考察了乙腈-0.1%冰醋酸水溶液、甲醇-乙腈 (1:1)-0.1%冰醋酸水溶液, 甲醇-乙腈 (1:1)-0.5%冰醋酸水溶液, 发现以甲醇-乙腈 (1:1)-0.5%冰醋酸水溶液为流动相进行梯度洗脱时, 基线较平稳, 各色谱峰之间分离良好。

本实验通过考察 ^{60}Co - γ 射线辐照对小儿清肺丸中 5 种活性成分含量的影响, 发现辐照剂量控制在 6 kGy 时, 能有效对小儿清肺丸消毒灭菌, 同时不影响制剂质量, 可为今后该类药物采用 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌提供参考。

表4 样品的测定结果 ($n=10$)Table 4 Determination results of samples ($n=10$)

样品	葫芦素 B/(mg·g ⁻¹)					葫芦素 E/(mg·g ⁻¹)					白花前胡甲素/(mg·g ⁻¹)				
	辐照前	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	辐照前	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	辐照前	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy
170105	2.365 5	2.301 2	2.275 6	1.012 3	0.891 2	4.118 3	4.001 2	3.899 5	3.815 4	3.800 2	1.901 7	1.887 1	1.878 9	1.871 2	1.870 1
170209	2.498 7	2.399 7	2.387 1	1.001 2	0.887 9	4.100 7	4.010 6	3.874 5	3.811 6	3.800 1	1.912 6	1.900 3	1.893 6	1.884 6	1.880 2
170313	2.557 2	2.511 3	2.484 1	1.008 9	0.879 6	4.076 5	4.011 6	3.913 1	3.900 4	3.798 7	1.926 8	1.918 7	1.911 4	1.901 3	1.899 8
170515	2.503 7	2.487 1	2.413 6	1.001 7	0.880 3	4.098 9	4.003 2	3.886 6	3.865 4	3.801 7	1.918 7	1.900 3	1.887 6	1.869 8	1.851 4
170625	2.517 3	2.486 1	2.276 5	1.027 1	0.893 3	4.101 4	4.023 6	4.001 7	3.999 6	3.812 7	1.935 7	1.930 2	1.928 9	1.926 8	1.920 3
170711	2.493 3	2.473 3	2.132 6	1.002 7	0.874 9	4.087 6	4.053 6	4.011 3	3.895 6	3.803 6	1.905 8	1.889 7	1.875 6	1.870 1	1.860 3
170809	2.479 6	2.451 8	2.226 9	1.003 4	0.883 7	4.095 4	4.063 3	4.021 7	4.000 1	3.902 7	1.919 6	1.904 5	1.889 7	1.876 3	1.870 4
170921	2.399 1	2.274 5	2.139 6	1.000 6	0.871 6	4.091 2	4.001 3	3.995 4	3.988 6	3.901 1	1.887 3	1.880 1	1.879 2	1.878 3	1.870 3
171106	2.462 6	2.389 4	2.134 9	1.013 2	0.891 1	4.135 1	4.036 4	3.984 7	3.902 3	3.734 5	1.895 8	1.890 3	1.886 9	1.882 1	1.880 0
171227	2.478 4	2.401 9	2.336 1	1.044 7	0.872 3	4.172 9	4.063 4	4.000 1	3.997 5	3.821 7	1.911 5	1.910 7	1.909 8	1.907 3	1.900 7
均值	2.475 5	2.417 6	2.280 7	1.011 6	0.882 6	4.107 8	4.026 8	3.958 9	3.917 6	3.817 7	1.911 6	1.901 2	1.894 2	1.886 8	1.880 3
<i>t</i> 检验	—	5.09	4.16	1.67	1.09	—	8.76	5.95	3.95	4.39	—	3.77	3.49	5.08	5.97
<i>P</i> 值	—	0.15	0.26	0.01	0.01	—	0.37	0.16	0.09	0.06	—	0.13	0.17	0.16	0.11

样品	白花前胡乙素/(mg·g ⁻¹)					白花前胡素 E/(mg·g ⁻¹)				
	辐照前	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	辐照前	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy
170105	0.426 7	0.421 2	0.420 3	0.410 1	0.410 0	0.512 6	0.508 7	0.501 3	0.499 3	0.499 0
170209	0.428 9	0.420 5	0.418 3	0.408 7	0.400 5	0.511 9	0.503 4	0.498 7	0.490 2	0.489 2
170313	0.457 1	0.450 5	0.443 9	0.441 7	0.441 1	0.521 7	0.513 6	0.501 7	0.499 7	0.499 1
170515	0.431 2	0.428 4	0.420 7	0.411 1	0.410 7	0.518 8	0.516 9	0.502 4	0.489 6	0.489 0
170625	0.443 9	0.441 1	0.431 7	0.429 8	0.420 6	0.520 9	0.518 6	0.502 7	0.500 1	0.499 3
170711	0.438 1	0.431 7	0.427 7	0.421 8	0.420 1	0.515 9	0.508 7	0.498 9	0.487 7	0.487 1
170809	0.440 6	0.436 7	0.422 9	0.401 8	0.400 7	0.516 9	0.507 4	0.498 3	0.481 2	0.480 0
170921	0.455 8	0.455 1	0.453 2	0.451 1	0.450 3	0.516 6	0.510 7	0.501 6	0.498 6	0.498 1
171106	0.436 9	0.431 1	0.429 6	0.428 6	0.427 7	0.517 5	0.511 1	0.502 4	0.487 6	0.486 3
171227	0.435 5	0.431 2	0.419 6	0.409 7	0.408 3	0.521 3	0.511 7	0.502 7	0.498 6	0.497 6
均值	0.439 5	0.434 8	0.428 8	0.421 4	0.419 0	0.517 4	0.511 1	0.501 1	0.493 3	0.492 5
<i>t</i> 检验	—	6.59	7.54	6.04	6.52	—	7.12	2.19	4.02	1.62
<i>P</i> 值	—	0.06	0.08	0.11	0.09	—	0.23	0.07	0.18	0.12

参考文献

- [1] 范一灵, 李琼琼, 房蕊, 等. 上海地区10种中药饮片微生物污染情况研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1908-1913.
- [2] 黄玉兰, 李镇涛, 吕谦. 中药制剂微生物污染的因素及对策 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 204-207.
- [3] 吴建雄, 曹光环, 秦建平, 等. 正交试验优化人参的微波灭菌工艺研究 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(1): 27-30.
- [4] 王睿陟, 李世文. 黄芩粉的干热灭菌工艺研究 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2092-2096.
- [5] 孙建宇. ⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌在中药及制剂中的应用研究 [J]. 中国药师, 2006, 9(5): 464-465.
- [6] 冯少俊, 伍振锋, 王雅琪, 等. 中药灭菌工艺研究现状及问题分析 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2667-2673.
- [7] 张世才, 李奉勤. 辐照灭菌在中药方面的应用研究进展 [J]. 中国药业, 2009, 18(20): 76-77.
- [8] 严丹, 袁星, 解达帅, 等. 中药饮片灭菌的研究现状与思考 [J]. 中草药, 2016, 47(8): 1425-1429.
- [9] 卫生部药品标准·中药成方制剂 (第19册) [S]. 1996.
- [10] 陈颖, 董孝刚, 孟丽, 等. 天花粉中总三萜皂苷的含量分析 [J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(4): 61-63.
- [11] 冯果, 陈娟, 刘文, 等. 天花粉有效成分及药理活性研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2015, 32(6):

- 59-62.
- [12] 梁卫青, 蒲锦宝, 程 林, 等. 野生与人工栽培前胡药材中 3 种香豆素含量比较研究 [J]. 中药材, 2014, 37(11): 1966-1968.
- [13] 吴文玲, 陈佳佳, 刘守金, 等. HPLC 同时测定前胡中 3 种香豆素成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1121-1123.
- [14] 李红燕, 张 蕊, 冯晓川. HPLC 测定除痰止咳丸中的桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、白花前胡甲素和白花前胡乙素 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 78-82.
- [15] 胡轶娟, 潘宏华, 浦锦宝, 等. 白花前胡 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中医药科技, 2012, 19(5): 437-439.
- [16] 张 村, 殷小杰, 李 丽, 等. 白花前胡蜜炙前后的药效学比较研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 146-148.
- [17] 王熹鹏. 香豆素的结构生物合成及其功能分析 [J]. 农产品加工学刊, 2011(8): 128-131.
- [18] 郭梦鸿, 孙玉琦, 刘 影, 等. 葫芦科植物药材中葫芦素类成分的含量差异 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(17): 1554-1558.