

^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对连翘质量影响的多元评价

毛腾霄¹ 伍欣然¹ 张聪聪¹ 程龙¹ 郑娇娇¹ 代琪¹ 何江²

¹(成都市药品检验研究院化学药品质量研究与控制重点实验室 成都 610045)

²(四川省原子能研究院辐照保藏四川省重点实验室 成都 610101)

摘要 考察 ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对连翘质量的影响。采用 ^{60}Co - γ 射线不同吸收剂量辐照处理连翘药材粉末,比较辐照前后样品有效成分含量、高效液相色谱(HPLC)指纹图谱相似度和水提物抑菌圈直径;建立近红外一致性评价模型,并考察最适杀菌吸收剂量。结果表明:吸收剂量为10 kGy时,辐照样品与未辐照样品相比,连翘酯苷A和连翘酯苷I含量差异极显著($p<0.01$);HPLC指纹图谱相似度下降;水提物对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径无显著差异($p>0.05$);近红外一致性评价模型可以较好地地区分辐照与未辐照样品;吸收剂量为5 kGy时,辐照能使研究样品的微生物负载降至较低水平。结果提示,10 kGy ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对连翘化学成分有一定影响,实际辐照操作中建议吸收剂量不超过5 kGy。

关键词 连翘, ^{60}Co - γ 射线, 辐照灭菌, 指纹图谱, 抗菌活性, 近红外光谱

中图分类号 TL99

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2024-0049

CSTR: 32195.14.j.JRRRP.1000-3436.2024-0049

引用该文:

毛腾霄, 伍欣然, 张聪聪, 等. ^{60}Co - γ 射线辐照灭菌对连翘质量影响的多元评价[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2025, 43(1): 010403. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2024-0049.

MAO Tengxiao, WU Xinran, ZHANG Congcong, *et al.* Multiple evaluation of the effect of ^{60}Co - γ irradiation sterilization on the quality of *Fructus forsythiae*[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2025, 43(1): 010403. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2024-0049.



Multiple evaluation of the effect of ^{60}Co - γ irradiation sterilization on the quality of *Fructus forsythiae*

MAO Tengxiao¹ WU Xinran¹ ZHANG Congcong¹ CHENG Long¹

ZHENG Jiaojiao¹ DAI Qi¹ HE Jiang²

¹(Key Laboratory of Chemical Quality Research and Control, Chengdu Institute For Drug Control, Chengdu 610045, China)

²(Key laboratory of Irradiation Preservation Sichuan Province, Sichuan Institute of Atomic Energy, Chengdu 610101, China)

ABSTRACT The aim of this study was to investigate the effect of ^{60}Co - γ irradiation sterilization on the quality of *Fructus forsythiae*. The medicinal powder of *Fructus forsythiae* was used at different doses. Ingredient

基金资助: 四川省药品监督管理局科技计划项目(2022012)资助

第一作者: 毛腾霄, 男, 1980年10月出生, 2006年6月于四川农业大学获微生物学硕士学位, 高级农艺师, E-mail: pzh_maotx@126.com

通信作者: 郑娇娇, 主管药师, E-mail: zhengjj0517@126.com

收稿日期: 初稿2024-06-29; 修回2024-09-12

Supported by Drug Science and Technology Plan Project of Sichuan Provincial Drug Administration (2022012)

First author: MAO Tengxiao (male) was born in October 1980, and obtained his master's degree from the Sichuan Agriculture University in June 2006, majoring in microbiology, senior agronomist, E-mail: pzh_maotx@126.com

Corresponding author: ZHENG Jiaojiao, pharmacist-in-charge, E-mail: zhengjj0517@126.com

Received 29 June 2024; accepted 12 September 2024

concentration, high performance liquid chromatography (HPLC) finger print and antibacterial activity of water extract against *Staphylococcus aureus* were used before and after irradiation for comparison. A near-infrared spectrum (NIR) consistency model of *Fructus forsythiae* was established by near-infrared spectroscopic methodology and the optimum dose of ⁶⁰Co-γ irradiation was investigated. The results showed that there was very significant difference ($p<0.01$) in the contents of the two compounds (forsythiaside A and forsythiaside I) compared to unirradiated samples. The similarity of HPLC fingerprints was decreased. The water extract's effectiveness against *Staphylococcus aureus* before and after irradiation in each sample showed no significant difference ($p>0.05$). The NIR consistency evaluation model was established to determine the irradiated samples. The microbial populations could be reduced to a lower degree at 5 kGy absorbed dose irradiation. ⁶⁰Co-γ irradiation sterilization would affect the quality of *Fructus forsythiae* at 10 kGy dose. It is recommended that the irradiation sterilization dose not exceed 5 kGy.

KEYWORDS *Fructus forsythiae*, ⁶⁰Co-γ ray, Radiation sterilization, Finger print, Antibacterial activity, Near infrared spectrum

CLC TL99

连翘(*Fructus forsythiae*)为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl. 的干燥成熟果实^[1]。连翘含有连翘苷^[2]、连翘酯苷 A^[3]、连翘酯苷 I^[4]和连翘酚^[5]等化学成分。现代药理学表明,连翘具有清热解毒、消肿散结等作用^[6]。药材在种植和加工过程中易受微生物污染,通常有一定的微生物负载,这也是中药制剂中微生物来源的主要因素之一^[7]。中药制剂微生物检查是上市产品监督抽验项目之一,因此,降低原料药材带菌量是药品相关企业的重要控制目标。⁶⁰Co-γ射线辐照技术具有灭菌速度快、清洁高效,可在常温下进行等特点,广泛应用于中药材和中药制剂的灭菌处理^[8-9]。原国家食品药品监督管理局发布的《中药辐照灭菌技术指导原则》^[10]规定了中药最大总体平均吸收剂量不得过 10 kGy。目前,已有关于辐照引起中药成分发生变化的相关研究报道^[11-12],本课题组在前期调研时发现,当前企业常常选择较大剂量辐照以保证卫生学指标均合格^[13]。而对于连翘药材,范伟^[14]发现,经一定吸收剂量的⁶⁰Co-γ射线辐照处理后连翘样品指纹图谱与对照图谱相比相似度下降,其有效成分连翘酯苷 A 和连翘酯苷 B 的含量显著降低。为进一步考察⁶⁰Co-γ射线辐照对连翘药材质量的影响,本文采用化学成分、抗菌活性及近红外光谱法进行了分析,旨在为研究连翘药材辐照相关工艺提供数据和理论依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

液相色谱仪(HPLC): Waters2695, 美国

Waters 公司; 旋转蒸发仪: Rotavapor R-3, 瑞士 BUCHI; 在线傅里叶变换近红外光谱仪: MATRIX-F, 布鲁克北京科技有限公司; 隔水式恒温培养箱: GHP-9270, 上海一恒科学仪器有限公司; 多功能微生物自动测量分析仪: ZY-300IV, 北京先驱威锋技术开发公司; 电子天平: AEG220, 日本岛津公司; 高速粉碎机: FSJ-A05N6, 小熊牌; 游标卡尺: MNT919102, 德国美耐特; Waters 色谱柱 (×Bridge C18 5 μm 4.6×250 mm Colum)。

1.2 标准品与试剂

连翘苷: 批号 110821-201816, 含量 95.1%; 连翘酯苷 A: 批号 111810-202108, 含量 96.2%; 金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]第4代菌种, 均由中国食品药品检定研究院提供; 连翘酯苷 I: 批号 MUST-18051610, 含量 98.0%, 由成都曼思特生物科技有限公司提供; 胰酪大豆胨液体培养基: 批号 200224-21, 由北京陆桥技术股份有限公司提供; 抗生素检定用培养基 I: 含胨 5 g、牛肉浸出粉 3 g、磷酸氢二钾(K₂HPO₄) 3 g、加纯化水至 1 000 mL; 0.9% 无菌氯化钠溶液, 均由实验室配制后灭菌备用; 色谱纯甲醇、甲酸: 赛默飞世尔科技(中国)有限公司提供。

1.3 药材

为尽可能减少因地域因素造成的质量差异对研究结果的影响, 20 批连翘药材均购自河南。经成都市药品检验研究院中药材质量监测评价重点实验室鉴定为正品后备用。

2 方法与结果

2.1 连翘⁶⁰Co-γ射线辐照处理

为保证研究样品的均匀性, 每批连翘样品经粉碎后过4号筛, 充分混匀后分装于无菌自封袋内, 每袋120 g。在四川省辐照中心进行⁶⁰Co-γ射线辐照, 吸收剂量设置为0 kGy(未辐照)、5 kGy、10 kGy。辐照后即进行各项指标测定, 统计分析采用IBM SPSS Statistics 22.0软件进行。

2.2 连翘高效液相色谱(HPLC)指纹图谱分析

2.2.1 对照品溶液制备

精密称取连翘苷、连翘酯苷A和连翘酯苷I对照品适量至100 mL容量瓶中, 加适量甲醇溶解后, 用甲醇定容至刻度, 配制成分别含上述3种成分118.8 μg/mL、82.0 μg/mL、88.8 μg/mL的溶液。

2.2.2 样品溶液的制备

经预试验选取2批微生物负载水平较低的连翘, 分别取其经0 kGy、5 kGy、10 kGy吸收剂量辐照的样品, 按以下操作进行样品溶液制备: 精密称取连翘样品1 g置具塞锥形瓶中, 精密加入70%甲醇25 mL, 密塞, 超声处理30 min, 放冷, 再精密称重并用70%甲醇补足缺失重量, 摇匀, 滤过,

即得。

2.2.3 色谱条件

流动相为甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min, 7% A; 10~20 min, 7%~20% A; 20~40 min, 20%~40% A; 40~60 min, 40%~65% A; 60~70 min, 65%~90% A; 70~75 min, 90%~7% A), 流速1.0 mL/min, 柱温30 ℃。以70%甲醇作为空白溶剂, 进样量为20 μL, 于280 nm波长处测定, 即得HPLC指纹图谱。

2.2.4 辐照前后有效成分含量分析

根据对照图谱获得2批样品不同辐照处理连翘苷、连翘酯苷A和连翘酯苷I的峰面积数据, 计算其含量(表1)。采用配对样本 t 检验, 将辐照处理样品的各含量数据与未辐照样品进行比较。可以看出, 经⁶⁰Co-γ射线10 kGy辐照处理后, 样品1连翘酯苷I含量从7.35 mg/g降至6.52 mg/g($p<0.01$), 连翘酯苷A含量从36.75 mg/g降至34.48 mg/g($p<0.01$); 样品2连翘酯苷I含量从7.31 mg/g降至6.34 mg/g($p<0.01$), 连翘酯苷A含量从35.76 mg/g降至34.14 mg/g($p<0.01$); 样品1和2连翘苷含量变化均无显著差异($p>0.05$)。说明在10 kGy吸收剂量辐照处理下, 连翘酯苷I和连翘酯苷A含量显著降低。

表1 连翘辐照前后各成分含量及其水提物对金黄色葡萄球菌活性的抑菌圈直径
Table 1 Content of each constituent and the diameter of the inhibition zone for *Staphylococcus aureus* of the water extract of *Fructus forsythiae* before and after irradiation

批数 Lot number	吸收剂量 / kGy Absorbed dose	连翘酯苷I /(mg·g ⁻¹) Forsythiaside I	连翘酯苷A /(mg·g ⁻¹) Forsythiaside A	连翘苷 /(mg·g ⁻¹) Forsythinn	连翘水提物(0.33 mg/L)抑菌圈直径 / mm Diameter of inhibition zone for water extract of <i>Fructus forsythiae</i> (0.33 mg/L)
1	0	7.35	36.75	3.60	15.07
	5	7.33	36.82	3.65	15.11
	10	6.52**	34.48**	3.63	14.99
2	0	7.31	35.76	3.67	15.10
	5	7.33	36.25	3.64	15.06
	10	6.34**	34.14**	3.64	14.95

注: 各成分含量均为5次重复测定数据平均值; 抑菌圈直径为4个测量数据平均值; **表示与未辐照相比差异极显著($p<0.01$)。
Note: Contents data are value of 5 repeated measurements; The data are value of 4 diameter of the zone of inhibition; ** indicates that the difference between irradiation and not irradiation is extremely significant ($p<0.01$).

2.2.5 连翘辐照前后指纹图谱相似度分析

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)”。工作状态选“分析检验”, 将连翘样品经0 kGy、5 kGy和10 kGy吸收剂量辐照的HPLC色谱图(cdf格式)导入软件, 通过多点校正, 选择时间宽为0.1进行Mark峰匹配, 生成连翘指纹

叠加图(图1), 配对后共有81个共有峰。相似度分析表明, 样品1经10 kGy吸收剂量辐照后与未辐照样相比, 相似度为0.923; 样品2经10 kGy吸收剂量辐照后与未辐照样相比, 相似度为0.936(表2)。说明⁶⁰Co-γ射线10 kGy吸收剂量辐照后连翘指纹图谱发生了变化。

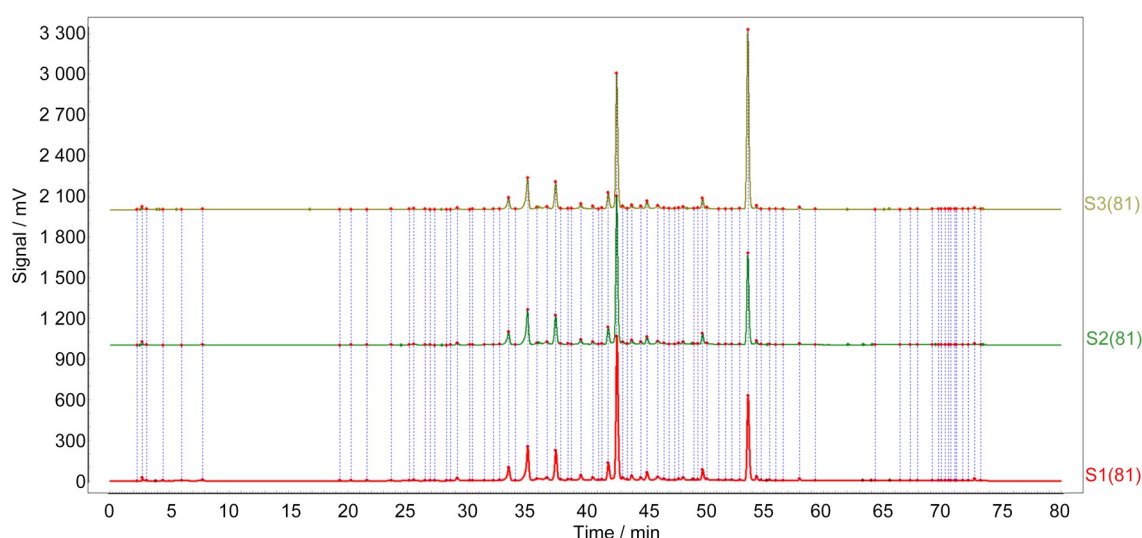


图1 ^{60}Co - γ 射线不同吸收剂量辐照处理连翘的HPLC指纹图谱
Fig.1 HPLC fingerprint chromatograms of *Fructus forsythiae* irradiated by different doses of ^{60}Co - γ ray

表2 ^{60}Co - γ 射线不同吸收剂量辐照处理连翘HPLC指纹图谱相似度

Table 2 HPLC fingerprint chromatograms similarity of *Fructus forsythiae* irradiated by different doses of ^{60}Co - γ ray

批数 Lot number	吸收剂量/ kGy Absorbed dose		
	0	5	10
1	1.000	0.999	0.923
2	1.000	0.999	0.936

2.3 抗菌活性评价模型建立

2.3.1 连翘水提物制备

取§2.2的2批样品，分别取其经0 kGy、5 kGy、10 kGy辐照处理的样品制备水提物。具体操作为：称取50 g至三角瓶中，加500 mL纯化水，浸泡30 min后煎煮，煮沸后用文火继续煮30 min，放冷，取全部煎煮液，3 000 r/min离心5 min，收集全部上清液，旋转浓缩至1 g/mL，即得。

2.3.2 菌液制备

无菌操作取金黄色葡萄球菌标准菌株适量，接种至100 mL胰酪大豆胨液体培养基中，于33 ℃培养24 h，备用(浓度约为 10^7 CFU/mL)。

2.3.3 量效关系考察

取已融化的抗生素检定用培养基I 20 mL，倾注于直径为90 mm的无菌培养皿，使之在平皿底部平整摊布，待凝固，作底层琼脂；另取抗生素检定用培养基I适量，加热融化后待温度降至50 ℃左右，向其中加入适量金黄色葡萄球菌菌液，使浓度约为 10^5 CFU/mL，摇匀后，用无菌移液管分

别向上述底层琼脂平皿中注入5 mL，使之均匀摊布于上层(双碟)，放置水平台面冷却，备用。取连翘未辐照样品的的水提物，用无菌水梯度稀释成各种浓度的溶液，各浓度之间剂距为0.8，采用管碟法，取双碟若干，用牛津杯放置器以等距离均匀放置6个牛津杯于双碟琼脂上面。操作时，分别依次加入各种浓度的提取液，用无菌陶瓦盖覆盖后，置36 ℃培养16 h。取出，用游标卡尺测量抑菌圈直径，经预试验选取适宜的系列浓度，并重复试验3次，取不同浓度提取液的抑菌圈直径平均值，以浓度为横坐标，抑菌圈直径大小为纵坐标拟合回归方程。得到连翘水提物浓度和与抑菌圈直径呈线性关系的范围。

2.3.4 连翘抑菌活性测定

根据量效关系曲线，选取适宜的浓度测定。测定1批样品时，取双碟2只，各碟内相邻的3只牛津杯滴满某一浓度的水提物(1只为未辐照对照，另2只为某一剂量辐照样品)，另3只牛津杯按以上设置滴满另一浓度的水提物，照§2.3.3量效关系考察方法进行培养和测量。

2.3.5 量效关系考察

对连翘未辐照样品不同浓度水提物抑菌圈直径进行测量，以浓度(C)为横坐标，抑菌圈直径大小(D)为纵坐标，进行线性拟合，得到量效关系直线方程式： $D=0.988C+11.049$ ($R^2=0.99$)。表明当连翘水提取物浓度在0.17~0.51 g/mL时，提取物浓度与抑菌圈大小线性关系良好，见图2(a)。

2.3.6 连翘抗菌活性测定结果

根据量效关系试验结果,在建立的标准曲线范围内,选择0.26 g/mL和0.33 g/mL两个浓度,采用管碟法进行抗菌活性测定(图2(b)),比较在相

同浓度下,各吸收剂量辐照处理与未辐照样品水提物抑菌圈直径的差异(配对样本 t 检验)。结果表明均无显著差异($p>0.05$)(表1),说明辐照对连翘的金黄色葡萄球菌的抗菌活性无显著影响。

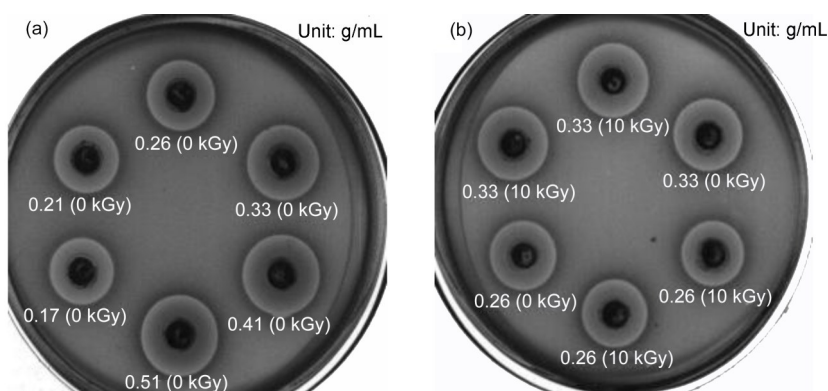


图2 连翘水提物对金黄色葡萄球菌的抗菌活性:(a)水提物浓度与抑菌圈直径线性关系良好;

(b)浓度为0.26 g/mL和0.33 g/mL浓度时,辐照前后抑菌圈直径无显著差异($p>0.05$)

Fig.2 Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* of water extract of *Fructus forsythiae*: (a) the concentration of the extract shows a good linear relationship with the diameter of the inhibition zone; (b) there is no significant difference in the diameter of the inhibition zone before and after irradiation at concentrations of 0.26 g/mL and 0.33 g/mL ($p > 0.05$)

2.4 近红外一致性评价模型建立

2.4.1 样品光谱图采集

取连翘样品20批,采用OPUS软件,分别采集0 kGy、5 kGy和10 kGy ^{60}Co - γ 射线辐照样品种光谱图。设定扫描次数3次,分辨率 8 cm^{-1} ,波数范围 $12\ 000\sim4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 。采集背景光谱在每次扫描光谱后予以扣除,求取平均值。

2.4.2 连翘辐照近红外一致性评价

20批连翘样品共获得60张原始光谱(图3),

可以看出,辐照与未辐照样品难以区分。在“建立合格性测试”界面选取未辐照样品的图谱,设置为参考光谱;选取辐照(5 kGy、10 kGy)样品的图谱,设置为测试光谱。在参数优化时,选择预处理为二阶导数,平滑点为17,一致性指标值调节为3.9。对建立的模型进行验证,结果显示,所建立的模型能够较好地地区别未辐照样品和辐照后样品,说明本研究中辐照后的连翘样品可以通过建立近红外一致性评价模型进行区别(图4)。

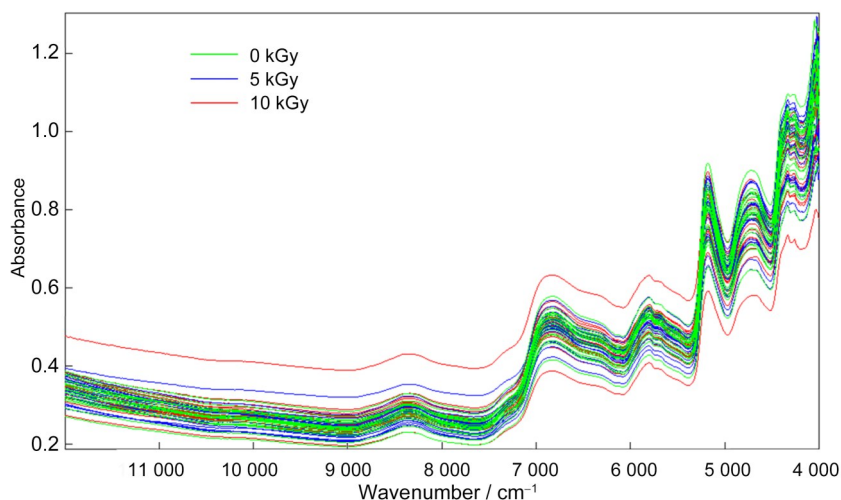


图3 连翘样品近红外光谱图(彩色见网络版)

Fig.3 Near-infrared spectrogram of *Fructus forsythiae* samples (color online)

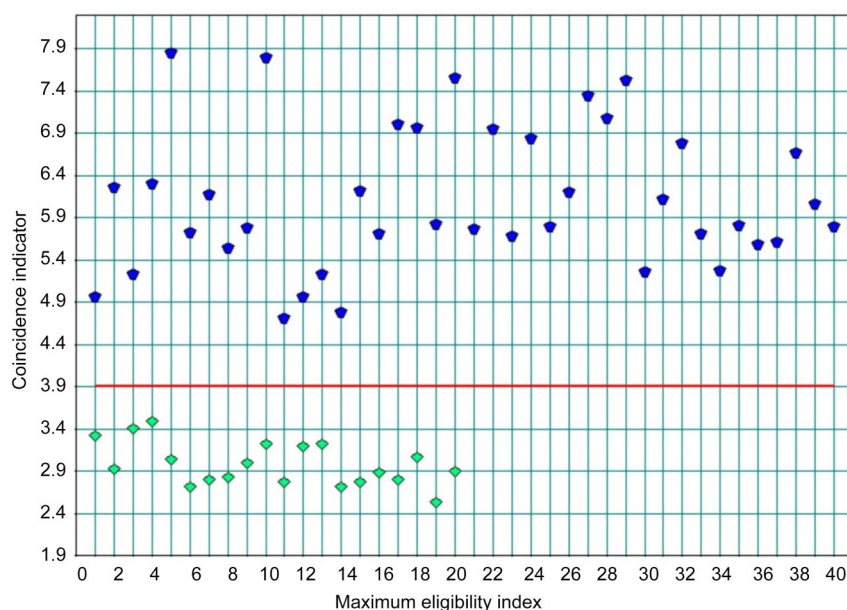


图4 连翘样品近红外一致性评价模型
Fig.4 Near-infrared consistency evaluation model of *Fructus forsythiae* samples

2.5 辐照前后微生物负载分析

2.5.1 检查项目

经预试验选取微生物负载较高的2批连翘样品，按§2.1方法进行辐照处理。分别取其经0 kGy、5 kGy和10 kGy吸收剂量辐照的样品，按照《中国药典》(2020年版)四部通则1108中药饮片微生物限度检查法^[15]，检查需氧菌总数(Total aerobic microbial count, TAMC)、霉菌和酵母菌总数(Total combined yeasts and molds count, TYMC)和耐胆盐革兰阴性菌(Bile-tolerant Gram-negative bacteria, BGNB)。检查前按《中国药典》要求进行方法适用性试验以确定适宜的检查方法。

2.5.2 ⁶⁰Co-γ射线吸收剂量对微生物负载影响

由于《中国药典》(2020年版)四部未规定使

用前需煎煮的中药材或饮片的微生物限度，故参照《美国药典》USP-NF2023“非无菌营养和膳食补充剂的微生物限度标准”中“使用前用沸水处理过的植物”标准进行评价^[16]。即每1 g连翘样品中TAMC应不得超过 10^6 CFU，TYMC应不得超过 10^4 CFU，BGNB应不得超过 10^2 CFU。从表3可以看出，选取的2批试验样品，需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数以及耐胆盐革兰阴性菌本底负载均超过USP-NF2023规定限值。经5 kGy吸收剂量辐照处理后，各检查项微生物数量均降至限值内；经10 kGy吸收剂量辐照后，各检查项微生物数量均降至100 CFU/g以内。表明，当⁶⁰Co-γ射线吸收剂量在5 kGy时，即可达到USP-NF2023卫生指标的要求标准。

表3 ⁶⁰Co-γ射线不同吸收剂量辐照处理对连翘微生物负载的影响
Table 3 Effects of different doses of ⁶⁰Co-γ irradiation on the microorganism of *Fructus forsythiae*

批数 Lot number	吸收剂量 / kGy Absorbed dose	微生物限度检查 / (CFU·g ⁻¹) Microbial limit testing		
		TAMC	TYMC	BGNB
1	0	3.8×10^7	1.6×10^6	$10^2 < N < 10^3$
	5	1 500	340	<100
	10	<100	<100	<100
2	0	6.2×10^6	8.5×10^4	$10^2 < N < 10^3$
	5	5 400	250	<100
	10	<100	<100	<100

3 讨论

辐照对连翘化学成分的影响已有一些报道。邓钢桥等^[17]采用UV比色法研究了⁶⁰Co- γ 射线10 kGy吸收剂量对贯叶连翘的影响,测定结果为双蒽酮含量较未辐照时减少0.97%。范伟^[14]采用HPLC方法探索了⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌对连翘有关成分的影响,结果表明,吸收剂量为10 kGy时,连翘酯苷A和连翘酯苷B含量与未辐照样品相比差异显著($p < 0.05$),芦丁和连翘苷含量无显著差异($p > 0.05$)。本研究发现,⁶⁰Co- γ 射线10 kGy吸收剂量辐照处理,可导致连翘中连翘酯苷A和连翘酯苷I含量显著降低($p < 0.01$),HPLC指纹图谱相似度下降。金黄色葡萄球菌一些菌株可引起人体感染,常作为中药抑菌试验的目标菌^[18]。有研究认为连翘水提物对金黄色葡萄球菌有较好的活性:徐亚男等^[19]发现金黄色葡萄球菌的生长能被贯叶连翘不定根提取物所抑制;王智颖等^[20]为比较不同产地、不同炮制方式连翘质量差异,采用了连翘煎煮液对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度法。本研究将金黄色葡萄球菌选为试验菌株,利用水溶性抑菌成分在固体培养基中平面扩散产生抑菌圈来测定辐照前后连翘水提物活性变化。根据剂量梯度试验,找出了水提物浓度与抑菌圈直径的线性关系范围,从而确定可作为比较辐照前后抑菌活性变化的浓度点。研究结果表明,辐照前后连翘水提物对金黄色葡萄球菌的抗菌活性无显著差异,说明辐照对水溶性抑菌成分的影响较小。

近红外光谱分析常用于药品质量的评价研究^[21-22]。其原理是先获得样品光谱图,并设定一组参考光谱,计算出参考光谱在每个波长点处吸光度的标准偏差,将待测光谱在该波长点处的吸光度和平均值的差值除以标准偏差,得到一致性指数(Conformity index, CI)。将待测光谱的CI与设定的CI限度进行比较,判断待测光谱与参考光谱是否具有-致性^[23]。本研究通过优化模型参数,设定的CI值能够较好区分辐照与未辐照样品,说明辐照前后图谱的特征信息存在差异,推测辐照引起连翘含氢基团发生了变化。

本研究探讨了⁶⁰Co- γ 射线吸收剂量与杀菌效果的相关性。由于《中国药典》(2020年版)四部未规定使用前需煎煮的中药材或饮片的微生物限度,故在各国药典中选取有相关规定且限值较为严格的《美国药典》USP-NF2023作参照。研究结果表

明,5 kGy吸收剂量可使微生物负载降低至限值范围内。由于不同药材受到微生物污染的程度不尽相同,微生物负载也有差异。因此,建议企业在辐照后取样进行微生物检查,以确定污染水平降到合理范围内。

辐照灭菌应用于中药的历史较短,研究基础弱,还需要进一步积累试验数据。有文献报道^[24],辐照杀菌时食品中水辐解产生的离子和自由基可能会影响食品营养成分,水分含量与辐照影响正相关。因此,药材中水分含量对辐照后有效成分的改变有无影响也是值得关注的地方。本研究仅考察了辐照前后连翘主要化学成分、指纹图谱、抗菌活性的变化;通过近红外模型对辐照样品进行了区分。今后还应从不同产地广泛选取代表性样品,并在辐照与药材质量稳定性方面展开研究,更准确地评价⁶⁰Co- γ 射线辐照对连翘质量的影响。

4 结论

本研究采用HPLC分析法、抗菌活性分析法和近红外光谱分析法探讨了不同吸收剂量⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌对连翘药材药效成分的影响。结果表明,当吸收剂量达到10 kGy时,连翘酯A和连翘酯苷I含量极显著下降;连翘水提物对金黄色葡萄球菌的抗菌活性在考察的吸收剂量下未发现有显著变化;采用近红外光谱可以较好区分辐照与未辐照连翘样品。采用5 kGy吸收剂量辐照能使连翘样品的微生物负载降至较低水平。建议企业在对连翘药材进行⁶⁰Co- γ 射线辐照灭菌时,吸收剂量不超过5 kGy。

作者贡献声明 毛腾霄负责HPLC、近红外光谱实验、整理分析数据,以及论文撰写;伍欣然、程龙负责研究样品采集;郑娇娇负责前期调研,提出本文研究思路;张聪聪负责微生物实验;代琪负责药材鉴定;何江负责研究样品辐照处理。所有作者均已阅读并同意最终文本。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部: 2020年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 177-178.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2020. One parts[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 177-178.
- 2 刘海燕, 付明月, 孙海珍, 等. 连翘苷调节SphK1/S1P/

- S1PR1 信号通路对流感病毒肺炎大鼠肺损伤的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, **40**(3): 378-382. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2024.03.016.
- LIU Haiyan, FU Mingyue, SUN Haizhen, *et al.* Effects of phillyrin on lung injury in rats with influenza virus pneumonia by regulating the SphK1/S1P/S1PR1 signal pathway[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2024, **40**(3): 378-382. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2024.03.016.
- 3 詹和道, 姚江凌, 崔红旺. 连翘酯苷 A 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, **43**(8): 1402-1407. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2023.08.009.

ZHAN Hedao, YAO Jiangling, CUI Hongwang. Effects of forsythoside A on IL-1 β -induced chondrocyte injury [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2023, **43**(8): 1402-1407. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2023.08.009.

 - 4 苏亚菲, 张云, 薛柯, 等. 不同采收期连翘 HPLC 指纹图谱建立及质量标志物预测分析、网络药理学研究[J]. 中成药, 2023, **45**(4): 1177-1183. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.025.

SU Yafei, ZHANG Yun, XUE Ke, *et al.* Establishment of HPLC fingerprints for *Forsythiae fructus* at different harvest periods and quality marker prediction analysis, network pharmacology research[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2023, **45**(4): 1177-1183. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.025.

 - 5 王雪峰. 小儿热速清口服液治疗儿童上呼吸道感染临床应用专家共识[J]. 中华中医药学刊, 2023, **41**(12): 253-258. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2023.12.048.

WANG Xuefeng. Expert consensus on clinical application of Xiao'er resuqing oral liquid in treatment of children's upper respiratory tract infection[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2023, **41**(12): 253-258. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2023.12.048.

 - 6 齐丽娜, 陈炫好, 金华, 等. 中药连翘化学成分及药理活性研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2021, **40**(2): 168-175. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2021.02.07.

QI Lina, CHEN Xuanhao, JIN Hua, *et al.* Research progress on the chemical constituents and pharmacological activities of *Forsythiae fructus*[J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2021, **40**(2): 168-175. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2021.02.07.

 - 7 胡立荣, 欧阳波, 文晓柯. 中药制剂生产中的微生物污染途径及控制[J]. 中国药事, 2015, **29**(6): 613-617. DOI: 10.16153/j.1002-7777.2015.06.010.

HU Lirong, OUYANG Bo, WEN Xiaoke. Microbial contamination routes in production of traditional Chinese medicine preparations and its controls[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2015, **29**(6): 613-617. DOI: 10.16153/j.1002-7777.2015.06.010.

 - 8 邱娅璐, 高鹏, 何江, 等. 川芎指纹图谱的建立及⁶⁰Co-γ辐照对其有效成分的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2023, **41**(5): 050303. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0007.

QIU Yalu, GAO Peng, HE Jiang, *et al.* Establishing the fingerprints of *Ligusticum chuanxiong* and assessing the effects of ⁶⁰Co-γ irradiation on its active components[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2023, **41**(5): 050303. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0007.

 - 9 高杨, 冯鑫鑫, 李林繁, 等. 辐射法制备淀粉基超级吸水材料及其性能[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2023, **41**(1): 010204. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0112.

GAO Yang, FENG Xinxin, LI Linfan, *et al.* Preparation of a starch-based superabsorbent polymer by γ-ray irradiation and investigation of its properties[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2023, **41**(1): 010204. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0112.

 - 10 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. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.049.

BAI Jie, CHI Yuming, JIN Hongyu, *et al.* Interpretation of "guiding principles of irradiation sterilization technology of traditional Chinese medicine" [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, **39**(7): 1537-1538. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.049.

 - 11 张立雯, 林玲, 林彤, 等. 龙胆和秦艽钴-60 辐照前后指纹图谱变化的研究[J]. 药物分析杂志, 2015, **35**(12): 2173-2180. DOI: 10.16155/j.0254-1793.2015.20.

ZHANG Liwen, LIN Ling, LIN Tong, *et al.* Study on the HPLC fingerprints of gentianae radix et rhizoma and gentianae macrophyllae radix before and after irradiation by ⁶⁰Co[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2015, **35**(12): 2173-2180. DOI: 10.16155/j.0254-1793.2015.20.

 - 12 滕宝霞, 牟建平, 顾海燕, 等. ⁶⁰Co-γ射线辐照对复方胰酶散质量影响的研究[J]. 中南药学, 2020, **18**(1): 108-111. DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2020.01.022.

TENG Baoxia, MU Jianping, GU Haiyan, *et al.* Effect of

- ⁶⁰Co- γ ray irradiation on compound pancreatin powder[J]. Central South Pharmacy, 2020, **18**(1): 108-111. DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2020.01.022.
- 13 黄晓婧, 周晓英. 成都地区中药钴-60 辐照情况调研报告[J]. 中国药物评价, 2017, **34**(1): 33-35. DOI: 10.3969/j.issn.2095-3593.2017.01.009.
HUANG Xiaojing, ZHOU Xiaoying. Survey on condition of ⁶⁰Co- γ radiation of Chinese medicine in Chengdu City[J]. Chinese Journal of Drug Evaluation, 2017, **34**(1): 33-35. DOI: 10.3969/j.issn.2095-3593.2017.01.009.
- 14 范伟. ⁶⁰Co- γ 射线辐射灭菌对连翘药材指纹图谱及有效成分的影响[J]. 中国药师, 2021, **24**(1): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2021.01.036.
FAN Wei. Influence of ⁶⁰Co- γ ray irradiation on the fingerprint and effective components of *Fructus forsythiae*[J]. China Pharmacist, 2021, **24**(1): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2021.01.036.
- 15 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-四部: 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 171-176.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China -Four parts:2020 ed.[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 171-176.
- 16 The United States Pharmacopieial Convention. The United States pharmacopeia:general chapters[M]. 62th ed. Rockville: The United States Pharmacopieial Convention, 2023.
- 17 邓钢桥, 李文革, 王芊, 等. ⁶⁰Co- γ 射线辐照对几种植物提取物有效成份的影响[J]. 激光生物学报, 2002, **11**(5): 334-337. DOI: 10.3969/j.issn.1007-7146.2002.05.004.
DENG Gangqiao, LI Wenge, WANG Qian, *et al.* Effects of irradiation with ⁶⁰Co- γ ray on the effective component of some plant extracts[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2002, **11**(5): 334-337. DOI: 10.3969/j.issn.1007-7146.2002.05.004.
- 18 邓欣, 王佳琳, 晏嘉, 等. 导管相关血流感染金黄色葡萄球菌耐药性及其生物膜形成机制[J]. 中华医院感染学杂志, 2024, **34**(6): 826-831.
DENG Xin, WANG Jialin, YAN Jia, *et al.* Drug resistance and biofilm formation mechanisms of *Staphylococcus aureus* causing catheter-related and bloodstream infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2024, **34**(6): 826-831.
- 19 徐亚男, 刘懿萱, 廉美兰, 等. 贯叶连翘不定根粗提物对金黄色葡萄球菌的抑制影响[J]. 延边大学农学学报, 2021, **43**(4): 17-21. DOI: 10.13478/j.cnki.jasyu.2021.04.003.
- XU Yanan, LIU Yixuan, LIAN Meilan, *et al.* Inhibitory effect of crude extract from adventitious roots of *Hypericum perforatum* L on *Staphylococcus aureus*[J]. Agricultural Science Journal of Yanbian University, 2021, **43**(4): 17-21. DOI: 10.13478/j.cnki.jasyu.2021.04.003.
- 20 王智颖, 荆绮, 曹宝瑞, 等. 不同产地、不同炮制方式连翘的主要化学成分含量及抗菌活性比较评价[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, **43**(11): 2041-2047. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2023.11.017.
WANG Zhiying, JING Qi, CAO Baorui, *et al.* Comparative evaluation on main chemical components content and antimicrobial activity of Lianqiao with different origins and processing methods[J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2023, **43**(11): 2041-2047. DOI: 10.3969/j.issn.1674-070X.2023.11.017.
- 21 陶明, 周艳梅, 李勇, 等. 司他夫定胶囊近红外一致性检验模型建立及验证[J]. 中国药品标准, 2018, **19**(5): 376-381. DOI: 10.19778/j.chp.2018.05.008.
TAO Ming, ZHOU Yanmei, LI Yong, *et al.* Establishment and verification of conformity test model for stavudine capsules by near-infrared reflectance spectroscopy[J]. Drug Standards of China, 2018, **19**(5): 376-381. DOI: 10.19778/j.chp.2018.05.008.
- 22 童一洋, 郭志永, 闻宇, 等. 近红外光谱法检测复方甘草酸苷制剂的质量[J]. 华西药学杂志, 2024, **39**(3): 327-332. DOI: 10.13375/j.cnki.wcjps.2024.03.018.
TONG Yiyang, GUO Zhiyong, WEN Yu, *et al.* Quality study of compound glycyrrhizin preparation by near-infrared spectroscopy[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2024, **39**(3): 327-332. DOI: 10.13375/j.cnki.wcjps.2024.03.018.
- 23 Zhang X, Gao Z M, Yang Y L, *et al.* Rapid identification of the storage age of dried tangerine peel using a handheld near infrared spectrometer and machine learning[J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2022, **30**(1): 31-39. DOI: 10.1177/09670335211057232.
- 24 何凯锋, 陈秀金, 臧鹏, 等. 辐照杀菌技术对食品品质的影响及控制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, **49**(10): 299-305. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032622.
HE Kaifeng, CHEN Xiujin, ZANG Peng, *et al.* Research progress on effect of irradiation sterilization on food quality and its control[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, **49**(10): 299-305. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032622.