

中成药鼻炎片中三种微生物对 γ 射线敏感性研究*

李晓华^{1,2} 叶丽秀² 林若泰² 陈玉霞² 林勇² 杨泽明³

(华中农业大学生命科学与技术学院 武汉 430070)¹

(湖北省农业科学院原子能应用研究所 武汉 430064)² (军事经济学院 武汉 430013)³

摘要: 通过对鼻炎片中大肠杆菌、白色念珠菌、短小芽孢杆菌的存活数与辐照剂量关系的研究,建立了在鼻炎片中3种微生物的存活数与辐照剂量的数学模型,确定了3种微生物的 D_{10} 值,并对影响辐照灭菌剂量的因素进行了讨论。结果表明,在鼻炎片中,大肠杆菌对 γ 射线敏感性较高,白色念珠菌

• 湖北省农业科学院招标课题研究项目

收稿日期: 2000-02-24, 修回日期: 2000-10-08

对 γ 射线敏感性次之,短小芽孢杆菌对 γ 射线敏感性较低。

关键词:微生物, γ 射线,敏感性,中成药鼻炎片

中图分类号:Q937 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2001)03-0064-05

STUDIES ON SENSITIVITY OF THREE MICROORGANISM STRAINS TO γ RAYS IN CHINESE MEDICINE BIYAMPAN

LI Xiao-Hua^{1,2} YE Li-Xiu² LIN Ruo-Tai² CHEN Yu-Xia² LIN Yong² YANG Ze-Ming³

(College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)¹

(Institute of Application of Atomic Energy, Hubei Academy of Agriculture Sciences, Wuhan 430064)²

(Military Economic College, Wuhan 430035)³

Abstract: Based on studies on the relationship between the survival rate of three microorganism strains and the doses of γ rays, the mathematical models of the relationship were established, respectively. Their D_{10} values were determined, and the factors effecting the radiosterilization doses were discussed. Results showed that in chinese medicine BIYANPIAN, the sensitivity of *E. coli* to γ rays was the highest, the second was *C. albicans*, and the lowest was *B. pumilus*.

Key words: Microorganism, γ rays, Sensitivity, Chinese medicine BIYANPIAN

中成药因使用简便、毒性低、副作用小,特别是对防治某些疾病有独特的疗效,所以,在国内外受到广泛的重视和欢迎。中成药的应用领域在不断扩大,对中成药的需求也不断增加。同时,对中成药的质量和卫生标准的要求也不断提高,但中成药品种繁多、原料来源复杂,在贮藏过程中受温度、湿度及环境卫生等影响,使中成药易受微生物的污染。因此,有必要对中成药进行灭菌处理。

辐照处理是一项新技术,与常规处理方法如湿热灭菌法,环氧乙烷灭菌法相比,辐照处理既能杀灭产品中微生物又具有不升温、无残留、可在密封包装的条件下进行灭菌,灭菌处理后不会再污染等优点。这项新技术已逐渐在制药、化妆品、医疗用品的工业生产中成为理想的灭菌手段。

自1978年以来,不少科技工作者开展了中成药杀菌工艺、中成药辐照前后药效评价和辐解产物的研究。研究表明:在10K Gy辐照剂量下,主要药效和化学成份未明显变化^[1,3]。由于不同微生物对 γ 射线敏感性不同,即使同种微生物由于处在不同介质中,辐照灭菌所需的剂量也不同。只有了解不同微生物对 γ 射线的敏感性及这些微生物在不同介质中辐照灭菌所需的剂量,才能提高辐照灭菌的质量和效率。但目前关于这方面系统的研究报道较少,为此,我们于1995~1999年开展了在松刚益肝丹、鼻炎片等不同剂型中成药中微生物对 γ 射线敏感性的研究。

鼻炎片是武汉中联制药厂生产的中成药,主要用于治疗急、慢性鼻炎,剂型为片剂。大肠杆菌和霉菌是松刚益肝丹、鼻炎片等中成药中常见的污染菌,短小芽孢杆菌是国际辐照灭菌通过的标准菌株,本文通过鼻炎片中3种微生物的 γ 射线的敏感性的研究,确定鼻炎片中3种微生物的残存率与 γ 射线剂量的关系,建立数学模型,为中成药辐照灭菌提供剂量依据,对保证中成药辐照灭菌质量和提高钴源利用率具有重要的实际意义。

1 材料与方法

1.1 药品与菌株

鼻炎片：片剂，武汉中联制药厂生产的中成药；大肠杆菌 ATCC8099：国家标准检定菌株，由湖北省防疫站提供；白色念珠菌 ATCC10231：国家标准检定菌株，由湖北省防疫站提供；短小芽孢杆菌 E601：国际辐射灭菌通用的标准菌株。

1.2 辐照处理

湖北省农科院原子能所钴源辐照，源活度为 $4.14 \times 10^{13} \text{ Bq}$ ，设定7种辐照剂量（如表1所示，剂量率为：14.28Gy/min）3个重复，辐照温度为25℃，用 FeSO_4 剂量计标定剂量率（总不确定率 $\leq \pm 5\%$ ）。

表1 在鼻炎片中3种微生物的辐照处理

菌 株	剂 量 (kGy)								
大肠杆菌	0	0.1	0.5	0.8	1.0	1.5	2.0		
短小芽孢杆菌	0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
白色念珠菌	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	

1.3 试验方法

将5g鼻炎片放入50mL三角瓶中，灭菌，经确证无菌后将供试菌株定量加入，摇匀，辐照后立即进行菌检。

1.4 微生物检测方法

按《药品卫生检验方法》分别测定大肠杆菌、白色念珠菌、短小芽孢杆菌的数目^[2,3]，均在24h内完成，减少因辐照样品存放时间不同可能造成微生物计数的误差，以保证实验的准确性。

2 结果与讨论

2.1 3种微生物的存活数与辐照剂量的关系

鼻炎片中3种微生物经不同剂量的 γ 射线辐照后，微生物的存活率如表2所示。从表2中可以看出：在鼻炎片中3种微生物的存活率随辐照剂量增大而逐渐减少。在鼻炎片中大肠杆菌经剂量为0.1、0.5、0.8、1.0、1.5、2.0 kGy γ 射线辐照后存活率分别为：1.95%、0.42%、 $2.20 \times 10^{-2}\%$ 、 $3.20 \times 10^{-3}\%$ 、 $6.39 \times 10^{-4}\%$ 、 $1.02 \times 10^{-5}\%$ ；短小芽孢杆菌经剂量为1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 kGy γ 射线辐照后存活率分别为：58.33%、27.50%、19.70%、6.49%、3.01%、0.41%、0.23%、0.13%；白色念珠菌经剂量为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 kGy γ 射线辐照后存活率分别为：42.73%、9.62%、5.71%、4.07%、3.60%、1.56%、0.31%。据报道微生物受 γ 射线辐照后会引引起其分子或原子电离、激发，发生一系列物理、化学及生物学变化，从而导致微生物死亡。导致微生物死亡的原因有两个方面：一是因为 γ 射线具有较高的能量，它直接轰击在微生物核酸、蛋白质和酶等与其生命有关的物质上，引起分子、原子电离或激发，以致化学键断裂而导致死亡。二是因为水是微生物的重要组分，药品内也含有一定量水分。 γ 射线辐照能使水分子电离或激发，产生大量的自由基和过氧化

物,而这些自由基和过氧化物能使微生物体内氨基酸中的氨基脱氨,使半胱氨酸的-SH、丝氨酸的酪氨酸的-OH、组氨酸的双键氧化,使氢键断裂,造成蛋白质变性或沉淀,从而导致微生物死亡。因此, γ 射线作用的剂量越高,微生物的死亡率越高。

表2 在鼻炎片中经不同剂量 γ 射线辐照后微生物的存活率

大肠杆菌			短小芽孢杆菌			白色念珠菌		
剂量 (kGy)	存活数 (个/mL)	存活率 (%)	剂量 (kGy)	存活数 (个/mL)	存活率 (%)	剂量 (kGy)	存活数 (个/mL)	存活率 (%)
0.0	1.41×10^9	100	0.0	1.68×10^6	100	0.0	5.50×10^6	100
0.1	2.77×10^7	1.95	1.0	9.80×10^5	58.33	0.5	2.35×10^6	42.73
0.5	5.90×10^6	0.42	2.0	4.62×10^5	27.50	1.0	5.29×10^5	9.62
0.8	3.13×10^5	2.20×10^{-2}	3.0	3.31×10^5	19.70	1.5	3.14×10^5	5.71
1.0	4.52×10^4	3.20×10^{-3}	4.0	1.09×10^5	6.49	2.0	2.24×10^5	4.07
1.5	9.07×10^3	6.39×10^{-4}	5.0	5.05×10^4	3.01	2.5	1.98×10^5	3.60
2.0	2.0	1.02×10^{-5}	6.0	6.96×10^3	0.41	3.0	8.60×10^4	1.56
			7.0	3.89×10^3	0.23	3.5	1.71×10^4	0.31
			8.0	2.14×10^3	0.13			

从表2可以看出:鼻炎片中3种微生物的存活率随剂量增大,下降的幅度明显不同。大肠杆菌、短小芽孢杆菌、白色念珠菌经剂量为1.0kGy γ 射线辐照后存活率分别为: $3.20 \times 10^{-3}\%$ 、58.33%、9.62%,结果表明:大肠杆菌的存活率随辐照剂量增大下降幅度较大,而短小芽孢杆菌的存活率下降幅度较小。同时也说明了3种微生物在同种介质中对 γ 射线的敏感性不同,这是由于微生物本身的细胞结构的不同和微生物对辐照损伤具有的修复能力的不同而造成。

为了进一步了解在鼻炎片中3种微生物的存活率与辐照剂量的关系,通过计算机对实验数据进行线性拟合,结果表明:辐照剂量与微生物存活数的关系符合对数方程,从图1中可以看出:在鼻炎片中3种微生物的存活数(N)的对数与辐照剂量(D)呈线性相关,相关系数都大于0.95,确定系数 R^2 也都大于0.91。经F检验表明,在显著水平为0.005时,在鼻炎片中3种微生物的存活数(N)的对数与辐照剂量(D)线性相关性极显著。

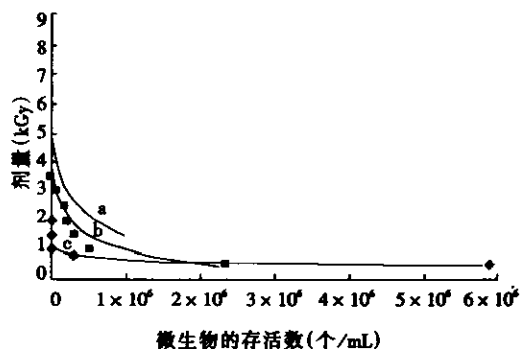


图1 鼻炎片中3种微生物的存活数与辐照剂量的关系

a 短小芽孢杆菌: $Y = 15.699 - 2.3778 \text{LOG}_{10}(X)$ $r = -0.9863^{**}$

b 白色念珠菌: $Y = 10.3341 - 5.595 \text{LOG}_{10}(X)$ $r = -0.9553^{**}$

c 大肠杆菌: $Y = 2.7709 - 0.35186 \text{LOG}_{10}(X)$ $r = -0.9895^{**}$

2.2 鼻炎片中3种微生物的 D_{10} 值的确定

D_{10} 值是在一定条件下,杀灭某种微生物的数目达到该种微生物初始数目的90%时

所需的剂量叫作该种微生物的 D_{10} 值。确定 D_{10} 值是作为选择合适的灭菌剂量的重要参数。确定了 D_{10} 值, 进行批量辐照灭菌时, 只需测出样品的初始含菌量, 并按照该物品的卫生指标, 即可确定灭菌剂量。

通过辐照剂量与微生物存活数的关系, 可以推导出 D_{10} 值:

D : 辐照剂量 (kGy); N_0 : 微生物的初始数目; N : 辐照后微生物存活的数目。

由 $D = a + \text{blg}N$ 当 $D = 0$ 时, $N = N_0$, 可得 $0 = a + \text{blg}N_0$ $a = -\text{blg}N_0$

当 $D = D_{10}$, $N = 10\% N_0$, 可得 $D_{10} = \text{blg}N_0 + \text{blg}N = \text{blg}N/N_0 = -b$

从以上公式可得在鼻炎片中 3 种微生物的 D_{10} 值 (如表 3 所示), 在鼻炎片中 3 种微生物的 D_{10} 值不同, 短小芽孢杆菌的 D_{10} 值较高, 白色念珠菌的 D_{10} 值次之, 大肠杆菌的 D_{10} 值较低, 表明在松刚益肝丹中 3 种微生物对 γ 射线的敏感性不同, 大肠杆菌对 γ 射线敏感性较高, 白色念珠菌对射线敏感性次之, 短小芽孢杆菌对 γ 射线敏感性较低。

2.3 影响辐照灭菌剂量的因素

根据以上关系式可推出: $D = -D_{10} \lg N/N_0 = D_{10} \lg N_0/N$, 从此公式中可以看出: 影响辐照灭菌剂量的因素为: D_{10} 值和微生物的初始含量 (N_0), 物品中污染的微生物越多, 则所需的辐照剂量越大。另一方面, D_{10} 值越大, 杀灭相同比例微生物所需的辐照剂量越大。 D_{10} 值不仅与微生物的种类有关, 而且与微生物所在的介质有关, 特别是在不同剂型的药品中 D_{10} 值差异较大。

综上所述可以得出以下结论: 在鼻炎片中 (1) 微生物的存活率随辐照剂量的增大而减少; 但随辐照剂量的增大, 3 种微生物的存活率减小的幅度不同。(2) 3 种微生物的存活数的对数与辐照剂量呈线性相关。(3) 3 种微生物的 D_{10} 值不同, 大肠杆菌对 γ 射线较敏感, 白色念株菌次之, 短小芽孢杆菌对 γ 射线敏感性较低。

表 3 在鼻炎片中 3 种微生物的 D_{10} 值

菌 株	D_{10} 值 (kGy)
大 肠 杆 菌	0.35
短小芽孢杆菌	2.38
白 色 念 珠 菌	1.56

参 考 文 献

[1] 李承华, 吴季兰. 辐射技术基础. 北京: 原子能出版社, 1988, 209~214.

[2] 郑均楠. 药品微生物学及检验技术. 北京: 人民出版社, 1992, 408~452.

[3] United Fresh Fruit and Vegetable Association (USA). Food irradiation for the produce industry. 1986. 16~24