

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.03.03

黄芪发酵散剂稳定性的研究

侯美如¹, 张 军²

(1. 黑龙江八一农垦大学, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

[收稿日期] 2022-05-02 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 03-0017-07 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为黄芪发酵散剂的储存条件及有效期的制订提供参考。依据发酵黄芪制剂的性状、粒度、外观均匀度检查、黄芪发酵散剂活菌数、黄芪甲苷含量为检测指标评价不同条件对药剂的影响程度,通过影响因素试验,高温试验,高湿度试验,强光照射试验等方法探究影响该制剂的因素,运用加速试验、长期试验为制订药物有效期做初步预定。经稳定性影响因素试验,发现黄芪散剂易受温度、湿度、光照等条件的影响,且以湿度和温度影响较大,考察项中以粒度、黄芪甲苷含量及活菌数变化明显,粒度易受到湿度的影响,黄芪甲苷及活菌数可受三种因素的影响,为了减少温度、湿度、光线因素对该药剂稳定性的影响,选用铝箔+PE复合包装袋密闭包装为市售包装,并对其进行加速试验及长期试验,经包装处理后的黄芪发酵散剂稳定性显著提高,粒度均合格,黄芪甲苷含量、活菌数有所下降,但均高于最低限度值。湿度、温度、光线三种因素对黄芪甲苷含量及活菌数均影响较大,在工业生产中应选择隔湿包装,在包装过程中也应控制环境湿度、温度,建议可将黄芪发酵散剂的有效期暂定为2年,使用铝箔+PE复合包装袋密闭包装,室温保存。

[关键词] 黄芪发酵;稳定性试验

Study on Stability of Astragalus Fermentation Powder

HOU Mei-ru¹, ZHANG Jun²

(1. Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2. Branch of Animal Husbandry and Veterinary, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihaer, Heilongjiang 161005, China)

Abstract: It provides a reference for the formulation of storage conditions and validity period of Astragalus fermentation powder. According to the character, particle size, appearance uniformity of fermented Astragalus preparation, the number of live bacteria of Astragalus fermentation powder and the content of astragaloside IV, the influence degree of different conditions on the preparation was evaluated. The factors affecting the preparation were explored through influencing factor test, high temperature test, high humidity test, strong light irradiation test and other methods. Use accelerated test and long-term test to make preliminary reservation for the formulation of drug validity. Through the stability influencing factor test, it is found that Huangqi powder is easy

基金项目: 大庆市指导性科技计划项目(zd-2020-54)

作者简介: 侯美如,硕士,从事疾病预防方面工作。E-mail:houteiru168@126.com

to be affected by temperature, humidity, light and other conditions, humidity and temperature have a great influence, In the investigation items, the particle size, astragaloside IV content and viable bacteria number change obviously, and the particle size is easily affected by humidity, Astragaloside IV and viable bacteria count can be affected by three factors, Astragaloside IV and viable bacteria count can be affected by three factors. In order to reduce the influence of temperature, humidity and light on the stability of the drug, aluminum foil + PE composite packaging bag is selected as the commercial packaging, The accelerated test and long-term test were carried out. After packaging, the stability of Astragalus fermentation powder was significantly improved, the particle size was qualified, and the content of astragaloside IV and the number of live bacteria decreased, but they were higher than the minimum value. Humidity, temperature and light have a great impact on the content of astragaloside IV and the number of viable bacteria. Moisture proof packaging should be selected in industrial production, and the environmental humidity and temperature should also be controlled in the packaging process. It is suggested that the validity period of Astragalus fermentation powder can be temporarily set as 2 years, sealed packaging with aluminum foil + PE composite packaging bag and stored at room temperature.

Key words: Astragalus fermentation; stability

黄芪作为传统中药材,始载于《神农本草经》,含有多糖、皂苷、黄酮等多种有效成分,具有补气固表、利尿消肿、托毒生肌之功效^[1],由于中草药的有效活性成分多被包裹在不易降解的纤维细胞内,难以被机体吸收,严重影响了药效的发挥。益生菌发酵中药不仅能够提高有效成分的释放量,产生丰富的次生代谢产物,提高药物利用率,增强中药药效,而且还能叠加益生菌的效能,产生双重功效^[2-4]。

经前期研究,筛选了发酵中药的菌种,优化了产业化发酵工艺,发酵黄芪中多糖、总黄酮和总皂苷的游离量分别比生药黄芪提高了 39.59%、41.59%、22.63%^[5]。且试验表明,发酵黄芪散具有提高动物生产性能,增强机体免疫力等功效,由于发酵黄芪无毒副作用、无残留,药食同源等特性,有待开发为一种有价值的功能性食品。

本课题以发酵黄芪的粒度、黄芪甲苷含量及活菌数为测定指标,通过影响因素试验、加速试验及长期试验结果表明该产品性状稳定,为该制剂保存条件及保质期的制定提供一定的数据支持。

1 材料

1.1 仪器 WD-A 药物稳定检查仪(天津药典标准仪器厂);日本岛津 SPD-20A 紫外检测器,LC-20AT 二元泵,Labsolution 色谱工作站(日本岛津公

司);KQ5200B 超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);ZNCL-S 自能恒温磁力搅拌器(上海美强仪器设备有限公司);PINE-TREE 帕恩特标准试剂级超纯水机(北京湘顺源科技有限公司);恒温振荡器 HZQ-FX 型(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司)

1.2 菌株与试剂 黄芪发酵散剂,自制,稳定性试验批号 20150601、20150604、20150612;模拟市售包装(铝箔+PE 复合包装袋密闭包装);黄芪甲苷标准品(含量:98%,批号:20150524,上海金穗生物科技有限公司);乙腈(天津市科密欧化学试剂有限公司,色谱纯);甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,色谱纯)。

2 方法

2.1 性状、粒度、外观均匀度检查 参照《中华人民共和国兽药典》2020 年版对指标进行检测^[6],在自然光条件下白色背景中,通过肉眼直接观察黄芪发酵散剂性状;五号筛的粉末的通过率对粒度考察;取供试品适量,置光滑纸上,平铺约 5 cm²,将其表面压平,在明亮处观察,色泽是否均匀,有无花纹、色斑,对外观均匀度进行考察。

2.2 含量的测定

2.2.1 色谱条件 Inertsustain C18 色谱柱(150 mm ×

4.6 mm,5 μm),流动相:乙腈、水(32:68),检测波长 203 nm,柱温:25 ℃,流速:1 mL/min,进样量:20 μL。

2.2.2 样品溶液的制备 取黄芪发酵散剂 5 g,分别加水 50 mL,置于微量振荡器上混匀 1 h,离心取上清,分别置于分液漏斗中,加入正丁醇 50 mL,进行萃取。弃液再次用正丁醇萃取,合并正丁醇萃取液,加入 1% NaOH 溶液 100 mL,洗涤 3 次,除色素后用超纯水洗至中性,收集正丁醇溶液,置 70 ℃水浴挥干溶剂,加甲醇溶解,待完全溶解后定容至 5 mL,摇匀,经 0.45 μm 滤膜过滤,超声除气,备用。

2.2.3 样品含量的质量标准 黄芪发酵散剂中黄芪甲苷含量应不低于本项目制定的质量标准草案规定标准,即不得低于 0.040%。

2.2.4 黄芪发酵散剂活菌数及质量标准 依据《中华人民共和国兽药典》2020 版二部活菌计数法第一法^[6]进行,黄芪发酵散剂中活菌数应不低于本项目制定的质量标准草案规定标准,即不得低于 10⁹。

活菌数:称取 1 g 黄芪发酵散剂,放入装有 50 mL 无菌水的锥形瓶中。于 37 ℃空气摇床中以 150 rpm 的条件振荡。振荡 30 min 后,在无菌操作台上取锥形瓶内 100 μL 上清液,用无菌水进行 10⁶ 倍梯度稀释。取 100 μL 稀释后的样品在 LB 固态培养基上进行涂布,于 37 ℃恒温培养箱中培养在 24 h,菌落计数,并记录。

2.3 影响因素实验 此项试验的目的是考察制剂处方的合理性与生产工艺及包装条件。取同一批黄芪发酵散剂进行试验,将黄芪发酵散剂置于培养皿,摊成≤5 mm 厚的薄层,放置以下环境内,进行考察。

2.3.1 高温试验 将上述样品 60 ℃温度下放置 10 天,于第 5 天和第 10 天,考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检查项目。

2.3.2 高湿度试验 将上述样品在 25 ℃分别于相对湿度 90%±5% 条件下放置 10 天,于第 5 天和第 10 天取样,考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检查项目。

2.3.3 强光照射试验 将上述样品放在装有日光灯的光照箱内,于照度为 4500 lx±500 lx 的条件下放置 10 天,于第 5 天和第 10 天,考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检查项目。

2.4 加速试验 样品取 3 批,铝箔+PE 复合包装袋密闭包装,在温度 40 ℃±2 ℃、相对湿度 75%±5% 的条件下放置 6 个月。在试验期间第 1 个月、2 个月、3 个月、6 个月末分别取样一次,考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检查项目。

2.5 长期试验 样品取 3 批,铝箔+PE 复合包装袋密闭包装,在温度 25 ℃±2 ℃、相对湿度 60%±10% 的条件下放置 24 个月,每 3 个月取样一次,分别于 0 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月、18 个月、24 个月取样,考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检查项目,将结果与 0 个月比较,以确定药物的有效期。

3 结果与分析

3.1 影响因素试验 将黄芪发酵散剂分别放置于高温、高湿、强光照射等试验条件下,考察其性状、含量、粒度、外观均匀度、活菌数及其他微生物检测,其结果见下表 1 及图 1:

表 1 黄芪发酵散剂影响因素试验(n=3)

Tab 1 Experiment on influence factors of fermented astragalus powder(n=3)							
试验 时间/d	性状	粒度/过筛率%	外观均匀度	黄芪甲苷/(mg/g)	黄芪甲苷变化/%	活菌数/数量级	其他微生物
高温	0 棕黄色粉末	97±0.76	色泽均匀,无花纹、色斑	6.125±0.0027	/	10 ¹⁰	未检出
	5 棕黄色粉末	98±0.25	色泽均匀,无花纹、色斑	5.638±0.0079 ^{aabb}	92.05	10 ⁹ ^{aabb}	未检出
	10 棕黄色粉末	97±0.03	色泽均匀,无花纹、色斑	5.224±0.0056 ^{aabb}	85.29	10 ⁸ ^{aabb}	未检出
高温	0 棕黄色粉末	97±0.05	色泽均匀,无花纹、色斑	6.241±0.0007	/	10 ¹¹	未检出
	5 棕黄色粉末	76±0.25 ^{aabb}	色泽均匀,无花纹、色斑	5.287±0.0043 ^{aabb}	84.71	10 ¹⁰ ^{aabb}	未检出
	10 棕黄色粉末	57±0.16 ^{aabb}	色泽均匀,无花纹、色斑	4.210±0.0052 ^{aabb}	67.46	10 ⁸ ^{aabb}	未检出
强光照射	0 棕黄色粉末	98±0.02	色泽均匀,无花纹、色斑	6.194±0.0100	/	10 ¹⁰	未检出
	5 棕黄色粉末	98±0.03	色泽均匀,无花纹、色斑	5.913±0.0093 ^{aabb}	95.46	10 ⁹ ^{aabb}	未检出
	10 棕黄色粉末	97±0.31	色泽均匀,无花纹、色斑	5.745±0.0049 ^{aabb}	92.75	10 ⁸ ^{aabb}	未检出

与初始值相比,标注(a)表示 $P < 0.05$ 显著;(aa)表示 $P < 0.01$ 极显著;同组间相比,标注(b)表示 $P < 0.05$ 显著;(bb)表示 $P < 0.01$ 极显著;黄芪甲苷含量变化百分比(%) = 所测得含量/初始含量,活菌数以三次重复试验中最低值的数量级表示,下同。

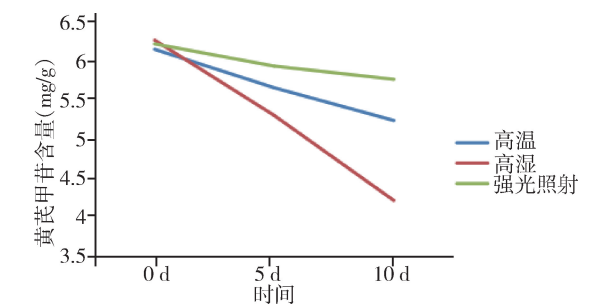


图 1 不同因素对黄芪甲苷含量的影响

Fig 1 Effect of different factors on the content of astragaloside IV

试验结果表明高温、高湿及强光照射条件下,黄芪发酵散剂的性状、外观均匀度均及其他微生物

检查项目无异常,高湿状态下粒度过筛率差异显著 ($P < 0.01$),形成大小不一结块,黄芪甲苷含量及活菌数变化差异显著,高温、高湿、强光照射对黄芪散剂有效成分黄芪甲苷及活菌数均有不同程度的影响,湿度、温度对其影响相对较大,在工业生产中应选择隔湿、避光包装材料,为此选择了铝箔 + PE 复合包装袋密闭包装作为黄芪发酵散剂的市售包装材料和工艺。

3.2 加速试验 此项试验是在加速条件下进行。其目的是通过加速药物的化学或物理变化,探讨药物的稳定性,为制剂设计、包装、运输、贮存提供必要的资料。样品取 3 批,铝箔 + PE 复合包装袋密闭包装,在温度 $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 的条件下放置 6 个月。在试验期间第 1 个月、2 个月、3 个月、6 个月末分别取样一次,依据质量标准草案考察其性状、粒度、外观均匀度、含量、活菌数及其他微生物检测。

表 2 黄芪发酵散剂加速试验 (n = 3)								
Tab 2 Accelerated test of fermented astragalus powder (n = 3)								
批次	时间/月	性状	粒度/过筛率%	外观均匀度	黄芪甲苷 / (mg/g)	黄芪甲苷变化 / %	活菌数 / 数量级	其他微生物
20150601	0	棕黄色粉末	97 ± 0.45	色泽均匀,无花纹、色斑	6.146 ± 0.0078	/	10 ¹⁰	未检出
	1	棕黄色粉末	97 ± 0.27	色泽均匀,无花纹、色斑	6.120 ± 0.0057	99.57	10 ¹⁰	未检出、
	2	棕黄色粉末	97 ± 0.05	色泽均匀,无花纹、色斑	6.071 ± 0.0077 ^{ab}	98.78	10 ¹⁰	未检出
	3	棕黄色粉末	97 ± 0.09	色泽均匀,无花纹、色斑	6.094 ± 0.0098	99.16	10 ¹⁰	未检出
	6	棕黄色粉末	97 ± 0.17	色泽均匀,无花纹、色斑	6.002 ± 0.0028 ^{ab}	97.65	10 ^{9aabb}	未检出
20150604	0	棕黄色粉末	96 ± 0.26	色泽均匀,无花纹、色斑	6.171 ± 0.0120	/	10 ¹¹	未检出
	1	棕黄色粉末	96 ± 0.18	色泽均匀,无花纹、色斑	6.128 ± 0.0059	99.31	10 ¹¹	未检出
	2	棕黄色粉末	96 ± 0.31	色泽均匀,无花纹、色斑	6.188 ± 0.0043	100.27	10 ¹¹	未检出
	3	棕黄色粉末	96 ± 0.52	色泽均匀,无花纹、色斑	6.074 ± 0.0078 ^{ab}	98.43	10 ^{10aabb}	未检出
	6	棕黄色粉末	96 ± 0.47	色泽均匀,无花纹、色斑	5.871 ± 0.0034 ^{aabb}	95.14	10 ^{10aabb}	未检出
20150612	0	棕黄色粉末	98 ± 0.53	色泽均匀,无花纹、色斑	6.255 ± 0.0048	/	10 ¹⁰	未检出
	1	棕黄色粉末	98 ± 0.08	色泽均匀,无花纹、色斑	6.227 ± 0.0008	100.04	10 ¹⁰	未检出
	2	棕黄色粉末	98 ± 0.27	色泽均匀,无花纹、色斑	6.198 ± 0.0037	99.56	10 ¹⁰	未检出
	3	棕黄色粉末	98 ± 0.52	色泽均匀,无花纹、色斑	6.147 ± 0.0065 ^{ab}	98.74	10 ^{9aabb}	未检出
	6	棕黄色粉末	98 ± 0.16	色泽均匀,无花纹、色斑	6.037 ± 0.0046 ^{ab}	96.98	10 ^{9aabb}	未检出

结果显示,其考察项性状、粒度、外观均匀度及其他微生物检查项目无异常,黄芪甲苷含量及活菌数三批次均有不同程度的变化,差异显著,但均未

低于黄芪甲苷最低含量 0.040%,活菌数在 $\geq 10^9$ 限定范围内,综合其考察项在 6 个月内样品较稳定,符合规定。

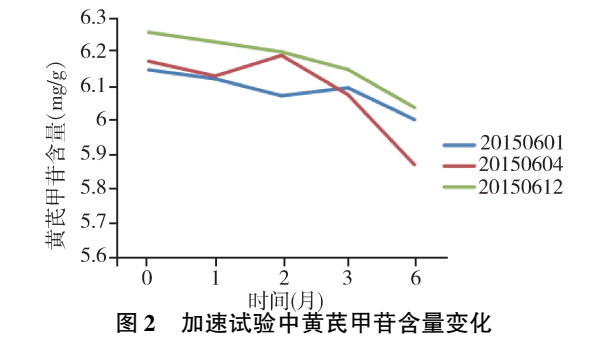


Fig 2 Changes of astragaloside IV content in accelerated test

3.3 长期试验 长期试验是接近药物的实际贮存条件下进行,其目的是为制定药物有效期提供依据,样品取 3 批,铝箔 + PE 复合包装袋密闭包装,在温度 25 ℃ ± 2 ℃,相对湿度 60% ± 10% 的条件下放置 24 个月,每 3 个月取样一次,分别于 0 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月、18 个月、24 个月取样,对取样的黄芪甲苷含量进行检测,将结果与 0 个月比较,以确定药物的有效期。

表 3 黄芪发酵散剂长期试验 (n = 3)

Tab 3 Long – term test of astragalus fermentation powder (n = 3)								
批次	时间/月	性状	粒度/过筛率%	外观均匀度	黄芪甲苷/(mg/g)	黄芪甲苷变化/	细菌数/数量级	其他微生物
20150601	0	棕黄色粉末	97 ± 0.51	色泽均匀,无花纹、色斑	6.170 ± 0.0072	/	10 ¹¹	未检出
	3	棕黄色粉末	97 ± 0.32	色泽均匀,无花纹、色斑	6.154 ± 0.0034	99.74	10 ¹¹	未检出
	6	棕黄色粉末	97 ± 0.27	色泽均匀,无花纹、色斑	6.074 ± 0.0053 ^{ab}	98.44	10 ¹¹	未检出
	9	棕黄色粉末	97 ± 0.41	色泽均匀,无花纹、色斑	6.055 ± 0.0063 ^{ab}	98.13	10 ¹¹	未检出
	12	棕黄色粉末	97 ± 0.18	色泽均匀,无花纹、色斑	6.021 ± 0.0071 ^{ab}	97.59	10 ^{10ab}	未检出
	18	棕黄色粉末	97 ± 0.11	色泽均匀,无花纹、色斑	5.873 ± 0.0029 ^{aabb}	95.20	10 ^{9 aabb}	未检出
	24	棕黄色粉末	97 ± 0.28	色泽均匀,无花纹、色斑	5.929 ± 0.0072 ^{ab}	96.09	10 ^{9 aabb}	未检出
	0	棕黄色粉末	96 ± 0.07	色泽均匀,无花纹、色斑	6.197 ± 0.0038	/	10 ¹¹	未检出
20150601	3	棕黄色粉末	96 ± 0.03	色泽均匀,无花纹、色斑	6.177 ± 0.0090	99.68	10 ¹¹	未检出
	6	棕黄色粉末	96 ± 0.15	色泽均匀,无花纹、色斑	6.157 ± 0.0059	99.36	10 ¹¹	未检出
	9	棕黄色粉末	96 ± 0.47	色泽均匀,无花纹、色斑	6.108 ± 0.0049 ^{ab}	98.57	10 ¹¹	未检出
	12	棕黄色粉末	96 ± 0.73	色泽均匀,无花纹、色斑	6.081 ± 0.0094 ^{ab}	98.13	10 ¹¹	未检出
	18	棕黄色粉末	96 ± 0.37	色泽均匀,无花纹、色斑	6.012 ± 0.0024 ^{ab}	97.02	10 ^{10 ab}	未检出
	24	棕黄色粉末	96 ± 0.83	色泽均匀,无花纹、色斑	5.909 ± 0.0017 ^{aabb}	95.36	10 ^{10 ab}	未检出
	0	棕黄色粉末	98 ± 0.48	色泽均匀,无花纹、色斑	6.213 ± 0.0005	/	10 ¹⁰	未检出
	3	棕黄色粉末	98 ± 0.35	色泽均匀,无花纹、色斑	6.221 ± 0.0037	100.13	10 ¹⁰	未检出
20150604	6	棕黄色粉末	98 ± 0.04	色泽均匀,无花纹、色斑	6.152 ± 0.0052	99.02	10 ¹⁰	未检出
	9	棕黄色粉末	98 ± 0.34	色泽均匀,无花纹、色斑	6.124 ± 0.0076 ^{ab}	98.57	10 ¹⁰	未检出
	12	棕黄色粉末	98 ± 0.28	色泽均匀,无花纹、色斑	6.091 ± 0.0062 ^{ab}	98.03	10 ¹⁰	未检出
	18	棕黄色粉末	98 ± 0.47	色泽均匀,无花纹、色斑	5.993 ± 0.0038 ^{aabb}	96.46	10 ^{9 ab}	未检出
	24	棕黄色粉末	98 ± 0.39	色泽均匀,无花纹、色斑	5.960 ± 0.0053 ^{aabb}	95.93	10 ^{9 ab}	未检出
	0	棕黄色粉末	98 ± 0.48	色泽均匀,无花纹、色斑	6.213 ± 0.0005	/	10 ¹⁰	未检出
	3	棕黄色粉末	98 ± 0.35	色泽均匀,无花纹、色斑	6.221 ± 0.0037	100.13	10 ¹⁰	未检出
	6	棕黄色粉末	98 ± 0.04	色泽均匀,无花纹、色斑	6.152 ± 0.0052	99.02	10 ¹⁰	未检出

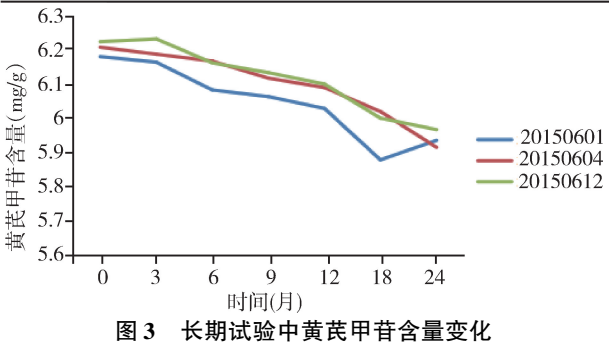


Fig 3 Changes of astragaloside IV content in long – term test

结果表明,其考察项目性状、粒度、外观均匀度及其他微生物检查项目均无异常现象,黄芪甲苷含量及活菌数在放置 24 个月均有显著变化,但均未低于黄芪甲苷最低含量 0.040%,活菌数在 ≥ 10⁹ 限定范围内,样品较为稳定,符合规定。

4 讨论与结论

黄芪发酵散剂是以黄芪为主的固体培养基接

种解淀粉芽孢杆菌发酵而成,两者发挥着主要药理活性作用,对药剂中黄芪有效成分黄芪甲苷含量及解淀粉芽孢杆菌活菌数的测定,对本品质量标准的制定有重要指导作用,同时为有效控制该药剂的内在质量,临床药效发挥都具有重要意义。参考已有黄芪甲苷含量测定方法,对其柱温、流速、流动相比例进行系统适用性试验以及波长的选择,试验证明以流动相乙腈、水(32:68),检测波长 203 nm,柱温:25 ℃,流速:1 mL/min 的色谱条件对黄芪甲苷的测定具有较强的专属性,与其他组份分离度较高、峰形对称、分析时间短、检测器更为普遍,便于作为该制剂含量测定研究。经试验证实,该株解淀粉芽孢菌具产纤维素酶能力^[7],可有效裂解细胞壁,促进黄芪中有效成分释放^[5],同时该株解淀粉芽孢杆菌还兼具益生作用^[8],可增强动物机体免疫力,提升机体体液免疫及细胞免疫水平,因此,对该制剂活菌数的考察,也是相当的必要。综合上述原因及《中国药典》对散剂稳定性考察项目的要求,选择对黄芪发酵散剂的性状、粒度、含量、外观均匀度、其他微生物检查及活菌数测定等项目为主要检测指标,用以评定该药剂稳定性。

经稳定性影响因素试验,发现黄芪散剂易受温度、湿度、光照等条件的影响,且以湿度和温度影响较大,考察项中以粒度、黄芪甲苷含量及活菌数变化明显,粒度易受到湿度的影响,黄芪甲苷及活菌数可受三种因素的影响,胡新奇等人^[9],对黄芪超微粉末稳定性影响因素试验,以黄芪甲苷为参考标准,也得到了同样的结果。解淀粉芽孢杆菌为抗逆性较强的菌类,在恶劣条件下,可促使其芽孢的形成,有效的抵抗外界的不良因素,本试验亦对该株解淀粉芽孢杆菌的生长特性做了研究,发现该菌株在 10 ℃~60 ℃环境均能生长,细菌培养 32 h 开始产生芽孢,培养 72 h 芽孢形成率可达 80.67%^[10],为该株在临床上的应用提供了天然保障。

为了减少温度、湿度、光线因素对该药剂稳定性的影响,选用铝箔+PE 复合包装袋密闭包装为市售包装,并对其进行了加速试验及长期试验,经包装处理后的黄芪发酵散剂稳定性显著提高,粒度

均合格,黄芪甲苷含量、活菌数有所下降,但均高于最低限度值,合理的包装及贮存方式可有效延长该制剂的保质期。

黄芪发酵散剂稳定性影响因素试验显示,温度、湿度、光照对黄芪发酵散剂性状、外观均匀度、其他微生物检查项目影响较小,湿度对黄芪粒度影响较大,形成大小不一结块,三种因素对黄芪甲苷含量及活菌数均影响较大,在工业生产中应选择隔湿包装,在包装过程中也应控制环境湿度、温度。根据本试验加速、长期试验结果,建议可将黄芪发酵散剂的有效期暂定为 2 年,使用铝箔+PE 复合包装袋密闭包装,室温保存。试验通过为该制剂稳定性的研究,为进一步制定质量标准的建立提供理论数据,也为该新药的申报提供试验方法和试验数据,对该药物的进一步深入研究和有效开发利用奠定理论基础。

参考文献:

- [1] 刘洋,杜婧,沈颜红. 10 种药用黄芪属植物化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 222-234.
Liu Y, Du J, Shen Y H. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of 10 medicinal species of Astragalus [J]. Chinese Journal of Experimental Formulas, 2017, 23(18): 222-234.
- [2] 李艳凤,翟梦颖,李雨昕,等. 发酵法在中药研究中的应用[J]. 医学综述, 2020, 26(04): 753-757.
Li Y F, Zhai M Y, Li Y X, et al. Application of fermentation method in traditional Chinese medicine research [J]. Medical Review, 2020, 26(04): 753-757.
- [3] 刘洋,金顺义,常娟,等. 复合益生菌发酵中草药前后活性成分变化[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(34): 123-125.
Liu Y, Jin S Y, Chang J, et al. Changes of active components before and after fermentation of Chinese herbal medicine with compound probiotics [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(34): 123-125.
- [4] 宋予震,史洪涛,范明夏,等. 微生物发酵中药进展[J]. 动物医学进展, 2021, 42(1): 105-109.
Song Y Z, Shi H T, Fan M X, et al. Progress in microbial fermentation of traditional Chinese medicine [J]. Advances in Veterinary Medicine, 2021, 42(1)0: 105-109.

[5] 侯美如, 刘 宇, 王 岩, 等. 解淀粉芽孢杆菌固态发酵黄芪中有效成分的变化[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(5): 64 – 68.
Hou M R, Liu Y, Wang Y, *et al.* Changes of Effective Components in Astragalus membranaceus by Solid State Fermentation with Bacillus amylolyticus[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017, 53(5): 64 – 68.

[6] 中国兽药典委员会. 中国兽药典 2020 版二部[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
China Veterinary Pharmacopoeia Committee. Chinese Veterinary Pharmacopoeia, Volume 2, Version 2020[M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2021.

[7] 刘 宇, 李 阳, 尹珺伊, 等. 一株产纤维素酶的解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定及其酶促反应适宜条件初步研究[J]. 家畜生态学报, 2017, 38(4): 58 – 62.
Liu Y, Li Y, Yin J Y, *et al.* Isolation and identification of a cellulase producing Bacillus amylolyticus strain and preliminary study on the optimum conditions for its enzymatic reaction[J]. Journal of Livestock Ecology, 2017, 38(4): 58 – 62.

[8] 王 岩, 陈楠楠, 侯美如, 等. 解淀粉芽孢杆菌 SSY1 株的安
全性试验[J]. 中国畜牧兽医 2017, 44(3): 928 – 934.
Wang Y, Chen N N, Hou M R, *et al.* Safety test of Bacillus amyloliquefaciens SSY1 strain[J]. China animal husbandry and veterinary medicine 2017, 44(3): 928 – 934.

[9] 胡新奇. 黄芪超微粉碎工艺及质量稳定性研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2013.
Hu X Q. Study on comminution technology and quality stability of Astragalus superfine powder[D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013

[10] 尹珺伊, 侯美如, 王 岩, 等. 产纤维素酶解淀粉芽孢杆菌分离株的生物学特性研究[J]. 动物医学进展, 2016, 37(6): 45 – 48.
Yin J Y, Hou M R, Wang Y, *et al.* Study on biological characteristics of cellulase producing bacillus amylolique faciens [J]. Prpgress in Veterinary Medicine, 2016, 37(6): 45 – 48.

(编 辑:陈 希)