

編號：CCMP96-RD-030、CCMP97-RD-101

輻射照射抑制火麻仁發芽之研究 (全程總報告)

周鳳英
國立清華大學

摘 要

本計畫係依照行政院衛生署中醫藥委員會96年度中藥品質管制暨中醫政策類委託研究計畫，研究重點1-4，火麻仁經炮製後之發芽研究提出。火麻仁為植物大麻(*Cannabis sativa* LINN.)之乾燥果實，是中醫用藥亦為鴿禽類之添加飼料。目前國內使用之火麻仁主要由中國大陸進口，屬於限制輸入貨品，對此中藥材之進口規定是經炮製後不具發芽力之火麻仁始得進口，唯目前進口之炮製後火麻仁之發芽率尚無確切完全抑制，造成進口時之困擾急待解決。本研究目的為探討加馬線照射抑制火麻仁發芽之最適照射條件。

本計畫為期二年。第一年度計畫為建立種子正常發芽之評估方法、探討不同照射條件對發芽之抑制效果，並進行新鮮火麻仁之採購以用於第二年研究，研究中已建立發芽率之評估方法，以不同之劑量照射會影響種子之發芽率。並確認炮製火麻仁有部分具出芽能力，實為不正常出發芽，當含水量較高時可促進輻射對發芽之抑制效果。由於新鮮火麻仁經繁複手續申請仍無法進口，故第二年以綠豆、芝麻及炮製之火麻仁評估抑制種子發芽所需之輻射劑量，並以不同溫度及劑量率下進行輻射照射處理，輻射照射於清華大學原科中心照射廠進行，照射後之種子樣品並立即進行發芽率、種子中多酚氧化酶(polyphenol oxidase)之活性測試及成分分析，並探討經照射是否影響火麻仁之致突變性。照射後樣品並進行貯存實驗，於三個月後再次進行上述測試。結果顯示綠豆及芝麻經4 kGy照射後僅存不正常發芽，6 kGy照射已完全抑制發芽。市售火麻仁經照射後其外觀及脂肪酸成分、酸價、過氧化價等無明顯影響，輻射照射並無增高其突變性，顯示輻射照射是抑制種子發芽之適當方法。

關鍵詞：火麻仁、輻射照射、抑制發芽

Number: CCMP96-RD-030, CCMP97-RD-101

Study of Germination Inhibition of Cannabis Semen by Gamma Irradiation(Final Report)

F. I. Chou

National Tsing Hua University

ABSTRACT

This project is based on the major research focuses 1-4 “study of the germination activity of roasted Cannabis semen”, proposed by the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy, Department of Health, Executive Yuan. Cannabis semen(CS), the dried seed of *Cannabis sativa* LINN., has been used as a traditional Chinese medicine to enhance human health, and also has been considered as a healthy supplemental dietary for pigeons. CS is subjected to the import restriction by the examination of its germination activity in Taiwan. Most of CS is imported from China, and it must be roasted for germination inhibition. However, some of the imported CS still have germination activity, thus the commodities are encountered by customhouse detention. Therefore, the control of germination activity of CS is urgently required.

The aim of this 2-year research is to set up the optimal irradiation condition for CS germination inhibition by the use of gamma irradiation. In this first year, protocol for evaluating germination activity was set up. Effects of different irradiation condition to germination inhibition was investigated. Results showed that although parts of the roasted CS showed to sprout, but they presented the abnormal germination since the plant could not have a good differentiation. Higher moisture could enhance the efficiency of gamma ray induced germination inhibition. At the second year project, because the procedure for entering the freshly harvested or un-roasted CS was heavy and complicated, the samples have not imported. Therefore, the roasted CS, mung beans and sesame were used for accessed the germination activity before and after exposed to a serial doses of gamma radiation in the cobalt-60 hot cell at National Tsing Hua University. Gamma irradiation

was performed under various temperature and dose rates, and the irradiated seeds were performed for germination efficiency and polyphenol oxidase activity tested. The irradiated roasted CS was performed for composition analysis. Ames test was used to determine the mutagenic potential of irradiated CS. Three months of post-irradiation storage was also performed. Results showed that mung beans, sesame cannot germinated normally after 4 kGy of irradiation, and the germination was completely inhibited after 6 kGy of irradiation. This dose was also the one for microbial decontamination of roasted CS. None obviously radiation effects on chemical composition including of fatty acid distribution, acid values, peroxide values of CS was investigated. Moreover, none mutagenic potential was detected in irradiated CS. From our results, germination inhibition was certified by gamma irradiation.

Keywords: Cannabis semen, Gamma irradiation, Germination inhibition

壹、前言

本計畫係依照行政院衛生署中醫藥委員會96年度中藥品質管制暨中醫政策類委託研究計畫，研究重點1-4火麻仁經炮製後之發芽研究提出。

火麻仁為桑科(Moraceae)植物大麻(*Cannabis sativa* LINN.)之乾燥果實，中藥用火麻仁呈卵圓形，果皮薄易破碎，種皮綠色，內有乳白色種仁。富油性、味淡、微辛⁽⁷⁾。中醫藥典中所記載的火麻仁，主要療效為潤燥、滑腸、通淋、活血，能夠治療腸燥便秘、痢疾、消渴以及月經失調等症狀⁽⁵⁾。目前國內使用之火麻仁主要由中國大陸進口，屬於限制輸入貨品，臺灣每年火麻仁之進口量約為2000噸，其中約20噸為中藥用，其餘多用為禽類飼料⁽¹⁴⁾。中藥用進口火麻仁之中文貨名為：中藥用大麻子、仁（火麻子、仁），不具發芽活性者⁽¹⁴⁾。中華民國海關進口之規定中藥材火麻仁是經烘焙、不具發芽活性、無法發芽種植者始得進口。但中藥商進口火麻仁之貨品曾遭關稅局檢出部分仍具發芽能力者，而被海關扣留、罰鍰，造成中藥進口之困擾。

生產火麻仁之大麻為“桑科植物大麻”，與〈印度大麻〉為同屬植物，印度大麻(*C. sativa* L. var. *indica* Lamark)的葉、莖、枝梢含有四氫大麻酚(Tetrahydrocannabinol；THC)、大麻酚(Cannabinol；CBN)、大麻二酚(Cannabidiol；CBD)等統稱為Cannabinoids的麻醉成分⁽²¹⁾。火麻仁雖未檢出含有印度大麻所含之CBD、CBN、THC等Cannabinoids成分，亦無大麻之鎮痛、抗扭曲藥理作用⁽¹²⁾，但植物中之成分確具有類似印度大麻之肌肉鬆弛、呼吸抑制等藥理作用。由於大麻中含之致幻物質易被不法分子用來提煉毒品，造成社會危害，因此，大麻的種植與利用受到社會的質疑與否定。

火麻仁之營養成分豐富，含有20~25%的蛋白質、20~30%的碳水化合物、10~15%的可溶性纖維，及豐富的礦物質，特別是磷、鉀、鎂、鈣、鐵和鋅等；含有18種氨基酸（其中7種為必需氨基酸）和12種必需脂肪酸。此外，大麻種子油中還含有花生四烯酸、棕櫚油、硬脂酸等對人體有益的營養成分^(17, 19, 25)。除藥用外，火麻仁亦常用在畜、禽的飼養中作為飼料添加物，用於改善肉質和增進毛髮、羽毛的光澤。臺灣盛行之賽鴿活動，亦常使用火麻仁為賽鴿之穀類飼料。火麻仁富含之亞麻子油被認為對禽類生長上等品質的羽毛有特別的效能，亦是很好的維他命來源，尤其所含之不飽和脂肪酸對禽類的動脈健康及心臟強健很重要，上述健康條件為長程賽鴿必須具備的。目前火麻仁的炮製無法達有

效完整抑制發芽，因此造成中藥用藥無法進口的問題，且造成禽類飼養添加物的缺乏問題。

輻射照射用於食品、農產品的保鮮、滅菌、抑制發芽之研究大約於1940年代開始，世界原子能總署於1950年參與此研究工作，至1988年已有33個國家准許食品照射，而至1990年則增為37個國家，所接受照射之食品種類相當廣泛，如馬鈴薯、穀類、大蒜、生薑、草莓、乾燥蔬菜、冷凍蝦、雞肉及香辛料等。輻射照射用於食品之保存已被多數國家承認是一種食品加工及保存方法，因特定劑量之加馬線照射對食品無殘毒，食品可在新鮮狀態或包裝後照射，以延長食品的保存期限，且不須加熱或添加防腐劑等^(34, 38-41)。由24個成員國組成的“國際輻照食品研究計畫機構”於1970年~1981年，進行了長達10年的輻照食品的衛生安全性研究，結果證實劑量在10 kGy以下輻照的食品是可以安全食用的。1997年FAO/IAEA/WHO輻照食品衛生安全聯合專家委員會更提出新的建議，不管輻照食品的照射劑量是低於或高於10 kGy，輻照食品是消化安全、營養適當的。此論點表明：輻照食品的照射劑量已無上限限制⁽⁴²⁻⁴⁴⁾。我國照射食品工作，於1979年由食品工業發展研究所首先針對大蒜、生薑、洋蔥及馬鈴薯等農產品進行研究，用於抑制其發芽生根，也促使衛生署於1985年核准14項農產品可接受照射，更於1991年研究香菇照射以達抑制蟲害，並期以刺激香味之產生。此外，並推廣照射大蒜⁽¹⁰⁾，要求照射食品要在包裝盒上標示記號，以提供消費者正確之訊息，與選擇使用照射食品的機會，更期望照射技術能為國內農業製造更多的加工方式，增進全民利益。

加馬線照射在抑制植物發芽之應用及其所需照射劑量對植物種子發芽之抑制機制已有許多文獻報告⁽²⁶⁾，主要作用在於破壞種子中染色體，使植物之生長代謝無法進行而達到抑制發芽的目的。例如：板栗收穫後有一段休眠期，在休眠期內栗果沒有發芽的危險。休眠期過後若遇到適宜的環境條件，栗果幼芽便開始生長發芽，因而降低栗果的商品價值和食用品質。⁶⁰Co 加馬線照射對栗果的抑芽具有顯著效果，經250 Gy以上劑量照射的栗果全部不能發芽，200 Gy以下劑量照射的板栗雖然還具有一定的發芽能力，但發芽率明顯地低於對照組⁽¹⁵⁾。扁豆亦可以輻射照射達到抑制發芽之效果，研究中經0.2 kGy照射處理後發芽率低於50%，經1.0 kGy照射後完全不能發芽⁽²⁶⁾。對於去外種皮的銀杏種子以不同劑量⁶⁰Co 加馬射線處理後，結果顯示50 Gy以上劑量處理的種子已不能發芽⁽¹⁶⁾。60 Gy照射對大蒜有明顯抑制發芽的效果，成分分析結果顯示短時間儲存不影響其脂肪酸組成，但經儲存五個月後的脂肪酸則有些改變

⁽³⁵⁾。生薑輻射照射抑制發芽的最適照射劑量為0.08~0.4 kGy，最高耐受劑量為0.4 kGy。結合聚乙烯蔬菜專用保鮮膜之包裝技術，生薑以適當劑量照射後能常溫下中長期貯藏，貯藏120天保鮮率可達到90%以上。在0.08~0.25 kGy的照射劑量範圍內，不會引起生薑之維生素C和鈣質含量的損失⁽²⁾。

輻射照射可用於抑制小麥、豆類等種子之發芽，已有許多文獻報導^(26, 36)。本研究室亦曾探討加馬輻射照射抑制綠豆發芽之效應，以加馬線照射應是克服進口火麻仁因烘焙不完全所致發芽問題的最佳方法。利用鈷-60之加馬射線照射農產品，可達到抑制發芽、防制蟲害之目的，此類應用於農產品之劑量低於滅菌之劑量限值10 kGy，是安全可靠之技術。但各種細胞對輻射之敏感度皆不相同，即使皆為豆類，其抑制發芽所需劑量仍有所差異，但其出芽率皆隨著照射劑量的增加而降低。本計畫原擬以輻射照射處理火麻仁，評估其發芽活性，同時分析照射後火麻仁之成分變化、酸價及過氧化價，研訂最適照射條件，使進口之火麻仁均能完全達有效抑制發芽，以合乎法規的要求，解決中藥火麻仁之進口問題。火麻仁為大麻植物(*Cannabis sativa* Linnaeus)的種子，在植物分類上原為桑科Moraceae植物，現已獨立成為大麻科Cannabaceae。大麻科中只有大麻*Cannabis*和葎草*Humulus*兩個屬。大麻屬只有大麻(*C. sativa* L.)一個種及其亞種印度大麻(*C. sativa* L. subsp. *indica*)，而此兩種種子皆為管制進口藥品。唯新鮮火麻仁無法進口，亦無法以與火麻仁同屬類源植物（同屬不同種）之種子取代試驗，故改以綠豆、芝麻及炮製火麻仁測試輻射對其發芽率之抑制效果，以市售火麻仁評估照射對其成分之影響。

貳、材料與方法

本研究為探討以輻射照射抑制火麻仁發芽之最適照射劑量與照射條件，照射劑量需達完全抑制火麻仁發芽之效果，且對火麻仁之成分外觀、風味等需不造成明顯影響，以建立輻射照射抑制火麻仁發芽之技術平台。

一、專案申請進口不同產地之新鮮及經儲存未經炮製之火麻仁樣品

因火麻仁為二級管制藥品，需透過中醫藥委員會行文而申請核可後始可進口。未經炮製之現年採收及儲存1~2年之火麻仁進口需先向行政院衛生署管制藥品管理局 證照管理組申請登記證，經衛生署管制藥品管理局 稽核管制組同意後，再向國貿局申請進口核准，於獲得輸入許可證後由鄭理事長協助，透過香港之中藥進口商進行採購進口。採購具發芽能力之火麻仁，供輻射照射抑制發芽研究用。申請進口現年採收之不同產地的新鮮大麻種子，以及經儲存不同時間（一至二年）之未經炮製之火麻仁各三批。

二、輻射源及輻射劑量率測定

樣品照射於清華大學原子科學技術發展中心之照射熱室中進行。使用之射源為鈷六十，由不鏽鋼密封包覆，射源釋出之加馬線能量為1.17及1.33 MeV，照射熱室之環境背景值 $<0.2 \mu\text{Sv/h}$ 。具有二支鈷六十射源棒（強度比約為30），可以分別以氣送式升降，設有照射轉盤，轉盤上刻有等劑量曲線並具有自轉之轉子，經由不同的射源升降及樣品於不同等劑量曲線上的放置，熱室內可以提供1 Gy/h至5 kGy/h間大範圍的劑量率，使受照射樣品得到精確的照射劑量。輻射劑量測定以硫酸亞鐵水溶液劑量計(Frick's dosimeter)進行。其成分包括0.001M FeSO_4 ，0.001M NaCl 及含飽和空氣之0.8 N硫酸水溶液。因輻射能之作用使亞鐵離子(Fe^{2+})氧化成鐵離子(Fe^{3+})，以304 nm光譜通過劑量計溶液分析鐵離子的濃度測量之。此系統測量之劑量範圍較大，誤差較小(1~2%)。且若以0.01 M之 CuSO_4 加入硫酸亞鐵溶液中，因銅離子的還原作用減少溶氧之消耗，可使劑量量測範圍增至 10^5 Gy 。

三、火麻仁含水率測定

植物種子中之含水量與其發芽率及儲存壽命具有密切的相關性，且含水量的多寡將會影響經輻射照射之發芽抑制率，故進行發芽試驗及輻

射照射處理前之火麻仁先測定其樣品含水率(moisture)。含水量的測定一般採用烘乾法，每一來源及不同處理之樣品均作5重複，每重複逢機取稱約100克之種子。

- (一) 將秤量瓶之瓶、蓋分開於100°C之烘箱中烘乾1小時後，蓋上蓋子取出置於含有足量乾燥劑的乾燥皿內，使其冷卻。待冷卻後秤量連蓋秤量瓶之重量。
- (二) 將待測種子加入秤量瓶後迅速蓋上蓋子，秤量並紀錄總重（鮮重）。
- (三) 將秤量瓶放入103°C之烘箱中，打開蓋子，烘乾種子及秤量瓶。
- (四) 含油量高者適用低溫法於103°C烘乾17小時；含油量低者適用高溫法於131°C烘乾1至2小時。火麻仁樣品屬含油量較高之種子，故使用低溫法進行烘乾。
- (五) 達烘乾時間後蓋上蓋子，迅速將之移入乾燥皿中使其冷卻。待冷卻後秤量並紀錄總重（乾重）。
- (六) 將鮮重扣除乾重所得之值為烘乾之水分含量，即可計算出各種子之含水率(moisture)。

四、火麻仁發芽率試驗

- (一) 火麻仁之催芽及發芽測試 各批次不同產地來源之市售火麻仁樣品逢機取30克（約1000粒）種子進行發芽率試驗。觀察並紀錄各批次樣品之發芽率、出芽長度及植株 生長狀況。為降低種子萌發期間遭受微生物感染之機率，種子先以30 % 之雙氧水浸泡15分鐘，再以無菌水沖洗種子數次後，分別浸泡48小時 後（20°C、避光催芽），將催芽後之種子移至發芽床置入植物生長箱 中，於控光（12小時光照）、控溫(20°C)培養培養7~14天。每日添加適量無菌水以保持發芽床濕潤，所採用之發芽床為以10 kGy輻射照射滅菌 後之濾紙，具有一定強度、質地好、吸水性強、保水性佳、pH值介於6.0~7.5之間，且不含可溶性色素或其他化學物質。每日觀察並計數發芽 數，並拍照紀錄。
- (二) 非生理反應之出芽測試：因市售炮製過火麻仁催芽後約有0.3%之不正常出芽，為確定其不正常出芽之性質進行以下測試。
 1. 低溫下之出芽測試：秤取30克之市售火麻仁浸泡於4°C的無菌水中，以冰浴的方式置入4°C冰箱中使其保持低溫，於黑暗中浸泡24、48、72小時。低溫下種子中之酵素活性被抑制，觀察及火麻仁之出芽長度是否會隨時間增長，或為是否有非生理性，只因細

胞膨脹所致“假性”出芽之現象，拍照紀錄之。

2. 種子烘乾後之出芽測試：秤取30克之火麻仁，置入100°C烘箱中烘乾1、2 hr以破壞其種子中之酵素後，分別以無菌水於20°C黑暗中浸泡24、48、72小時催芽，觀察火麻仁是否有出芽之現象並拍照紀錄。
- 3 以綠豆及芝麻種子進行出芽率測試：因綠豆及芝麻亦為植物之乾燥種子，以之進行照射劑量與發芽率之相關測試可與火麻仁樣品之輻射照射抑制發芽率作一比較。秤取15克（約200粒）乾燥綠豆種子，以無菌水浸泡6小時，於20°C的環境下避光催芽，將催芽後之種子移至發芽床置入植物生長箱中，於控光（12小時光照）、控溫(20°C)培養培養7~14天。每日添加適量無菌水以保持發芽床之濕潤，每日觀察計數發芽數、出芽長度及植株生長狀況，並拍照紀錄。芝麻則成取1克（約700粒）以無菌水浸泡3小時，於25°C的環境下避光催芽，將催芽後之種子移至發芽床置入植物生長箱中，於上述相同培養條件下培養7~14天。

五、火麻仁之發芽活性測試

種子胚部之生命活力以氯化三苯四氮唑法（TTC法）測試，凡有生命活力的種子胚部，在呼吸作用過程中都有氧化還原反應，而無生命活力的種胚則無此反應。當TTC滲入種胚的活細胞內，並作為氫受體被脫氫輔酶(NADH₂或NADPH₂)上的氫還原時，便由無色的TTC變為紅色的三苯基甲(triphenylformazan, TTF)，此現象顯示種子胚具生命活力。測試步驟如下：先將待測種子在30~35°C溫水中浸種，以增強種胚的呼吸強度，使之顯色迅速。取已浸泡之種子30粒，用刀片沿種子胚的中心線縱切為二個半粒，分別置於2組培養皿中，每一皿內裝30個半粒，加入適量的0.5% TTC，需完全覆蓋種子。將之置於30°C恒溫箱中0.5~1小時後觀察結果，凡胚被染為紅色的是活的種子。將另一半在沸水中煮5分鐘殺死胚，作同樣染色處理，作為對照觀察。計算活種子的百分率，與實際發芽率作一比較。

六、發芽酵素活性測試⁽²²⁾

經由文獻指出⁽³⁾多酚氧化酶(polyphenol oxidase)活性與小麥穗發芽率具有正相關性，因此本研究以多酚氧化酶(polyphenol oxidase)活性為指標，分析市售乾燥火麻仁經炮製後是否仍具有發芽活性。

(一) 取50克火麻仁樣品，以磨碎機先將樣品研磨成粉末狀，秤取5克火

麻仁粉末，加入30 mL的phosphate buffer(pH 7.0、0.1 M)內含0.25% Triton100，以均質機攪打90秒後，再以20000 xg離心20分鐘，所得上清液即為蛋白質粗萃取液。

(二) 取0.1mL蛋白質粗萃取液、0.2 mL苯鄰二酚(Catechol)溶液(0.5M)與1.9 mL phosphate buffer(pH 7.0、0.1 M)經震盪混和後放入石英管中，置於波長測定為420 nm的分光光度計中，測定一分鐘內其吸光值的變化。另準備一管不含酵素之反應液作為空白組試驗。

七、火麻仁之加馬線照射

依照我們先前對加馬抑制綠豆發芽及文獻所載用於抑制植物種子發芽所需輻射劑量(0.5~10 kGy)照射，探討加馬對種子樣品之抑制發芽效果。受測樣品包括不同批次之市售火麻仁與對照比較之芝麻及綠豆樣品，將受測樣品分裝於包裝袋中，分別攜入鈷六十照射熱室，置於距離射源特定距離之照射架上，照射架以每分鐘10轉旋轉，使照射品能得到均勻的輻射照射劑量，照射於不同時間點取樣，以得到所需之照射劑量。使用照射溫度為10 °C及20 °C，照射劑量率為0.5、1、2.3 kGy/hr分別進行火麻仁之輻射照射，測試上述不同溫度及劑量率下之照射條件，對抑制受測種子發芽活性之影響，於進行照射後立刻催芽種植及經三個月儲存後催芽測試發芽率。

輻射照射除抑制發芽亦可同時達到滅菌之效果，因此為瞭解火麻仁樣品之微生物含量與輻射照射劑量的關係，另取3個不同批次之火麻仁樣品進行3重複取樣，取樣前先將樣品混合均勻後以無菌操作方式稱取15 g置於樣品袋中，將樣品瓶攜入鈷六十照射熱室照射，照射後樣品立刻取出進行微生物含量測試。

八、市售火麻仁之微生物含量測定^(27-30, 45)

(一) 培養基及磷酸緩衝液之配製

1. PCA、PDA及Violet Red Bile Glucose Agar(VRBGA；Difco. Co.)

平板培養基之製備：取PCA、PDA粉末分別加入之血清瓶中，以少量蒸餾水攪拌均勻，繼續加入蒸餾水使最後之體積為1L，置於高壓滅菌鍋中滅菌。VRBGA培養基不可高壓滅菌，以加熱攪拌至沸騰且呈暗紅色透明為滅菌原則，沸騰時間不超過二分鐘。待其溫度降至50-60°C時，分別倒入直徑9 cm之培養皿中，每皿約10-15 mL，待其冷卻即可。

2. 液態培養基Plate Count Broth(PCB；Difco. Co.)製備：取PCB粉末

17 g，分別加入含有蒸餾水之三角瓶中，最後體積為1L，待攪拌均勻，分別分裝入玻璃試管中，每管9 mL，如上述狀況高壓滅菌，置冰箱冷藏備用。

3. 磷酸緩衝液之製備：取4.54 g KH_2PO_4 ，5.43 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，先溶於少許水中，再將體積加至1 L(pH值為7.2)。加入磁石攪拌均勻分裝至玻璃試管中，每管9 mL，加蓋後高壓滅菌，冷卻後置於冰箱冷藏備用。

(二) 微生物之菌數測定及分離 照射後樣品取出即加入磷酸緩衝液於4°C下浸泡一小時，再

置於鐵胃中拍打混合90秒，照射樣品經適當稀釋後以表面平板計數法(surface plate count)測菌數以及直接放置樣品於培養基上培養定性觀察。以PCA培養基測定total bacterial count⁽²⁴⁾；PDA培養基測定真菌及酵母菌⁽²⁵⁾；而VRBGA培養基可測定腸內菌(total Enterobacteriaceae)。以不同培養基培養使中藥材中各類細菌、真菌及酵母菌皆有生長表現之機會。

1. 表面平板計數法：取適當稀釋度之欲測菌液0.1 mL分別滴入PCA、PDA、VRBGA平板表面，以玻棒輕輕塗抹均勻，每一稀釋度三重複，倒置於25°C及30°C培養箱中。培養第二天後取出計數生長速率較快之菌種。之後，將培養皿再置回培養箱中，第四至七天再取出計數生長較緩慢之菌種。觀察培養皿表面生成菌落，並以移植針取出菌落中之菌體經染色後於顯微鏡下觀察。
2. 直接放置培養定性觀察：將照射前、後之樣品取出分別置放於平面培養基上，於30°C培養2-7天。取出目測及鏡檢樣品與培養基上之微生物生長狀況，並與上述表面平板計數法之結果相對照。

九、火麻仁經加馬照射前、後之外觀顏色測定

對於照射前、後之市售火麻仁樣品，以色差計(color meter：model TC-8600A, Tokyo Denshoku Co.)測定樣品之Hunter L（亮度）、a（+紅色度、-綠色度）、b（+黃色度、-藍色度）值，探討照射是否影響其外觀色澤。將顆粒完整無破碎之火麻仁裝入直徑3 cm之圓形石英槽中，佈滿底面後測量整個底面之顏色。每一樣品進行5重複之測量。

十、火麻仁經加馬照射前、後之脂肪酸含量分析

對於脂肪含量高的樣品，輻射照射處理需特別注意樣品中脂肪酸劣化及油脂過氧化的影響⁽⁴⁵⁾。火麻仁的營養價值高，脂肪含量高達30%，

照射後對其脂肪酸的成分有探討的必要。故取適量市售火麻仁經秤重包裝後，以可完全抑制種子發芽之最適照射條件進行輻射照射，隨後進行其脂肪酸組成分析，並以未經照射者為對照組，瞭解火麻仁經輻射照射後是否影響其成分。

其實驗步驟為：樣品依AOAC之方法萃油，取適量粗油以 $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 甲酯化後以GC分析脂肪酸組成。稱取適量火麻仁樣品加混合溶劑($\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}=2:1$)萃取，於 60°C 加熱回流1h，過濾後加入60 ml BF_3 /乙醚溶液於 60°C 冷卻20 min後，加入5 ml 飽和NaCl 液及1 ml 正乙烷振盪，靜置取上清液進行氣相色譜分析。氣相色譜分析條件如下：使用管柱：Supelco wax10, $30\text{m}\times 0.25\text{mm}\times 0.25\mu\text{m}$ ，柱溫為 150°C 保持2 min，以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升溫至 195°C 後，保持30 min。氫火焰離子化檢測器(HFID)之環境溫度為 25°C ， N_2 流速為35 ml/min，注射樣品量為 $0.5\mu\text{l}$ 。

十一、火麻仁照射前、後之酸價分析

參考CNS 3647 N6082 食用油脂檢驗法（酸價之測定）進行之，酸價之定義為中和每一克油脂中游離脂肪酸所需之氫氧化鉀毫克數，酸價愈高表示樣品的酸敗程度愈高。將市售火麻仁樣品（5-10克）打碎均質後稱取適量於250 ml錐形瓶中，加100 ml之正己烷，以超音波振盪器振盪2小時，使之萃取完全。以濾紙過濾後，將澄清液倒入濃縮瓶中濃縮，至濃縮瓶中剩下少許液體，再加50 ml之正己烷清洗錐形瓶之殘留物。再以濾紙過濾，將澄清液倒入濃縮瓶中，真空濃縮機濃縮至乾。準確吸取0.1N硫酸溶液25 ml加入50 ml之去離子水及2滴酚酞指示劑，以0.1N氫氧化鉀酒精溶液滴定至呈淡紅色（維持30秒不變）為其終點，計算其當量濃度係數。 $F=V/25$ （V為0.1N氫氧化鉀標準酒精溶液之滴定量）。

十二、火麻仁照射前、後之過氧化價分析

過氧化價依A.O.A.C.法分析之⁽²⁴⁾。將市售火麻仁樣品打碎均質後稱取適量於250 ml錐形瓶中，加100 ml之正己烷，以超音波振盪器振盪2小時，使萃取完全。以濾紙過濾後，將澄清液倒入濃縮瓶中，經濃縮至瓶中剩下少許濃縮液後，再加50 ml之正己烷，以清洗錐形瓶中之殘留物，再以濾紙過濾一次，將所得澄清液倒入濃縮瓶中，以真空濃縮機濃縮至乾。再加30 ml冰醋酸-氯仿(3/2, V/V)混合液，振盪使之完全溶解後。加0.5 ml之飽和碘化鉀溶液，搖動1分鐘。加30 ml去氧蒸餾水搖動30秒，加澱粉指示劑（此時呈藍黑色）。以0.01N硫代硫酸鈉標準溶液

滴定，至藍黑色消失，另作一空白試驗，計算樣品之0.01N硫代硫酸鈉溶液消耗量。

十三、致突變率測試(Ames test)⁽³³⁾

致突變的測試多利用微生物觀察測試其DNA突變情形，以瞭解樣品對基因的傷害及其影響程度。其中以Ames test是最常用來偵測致突變物的方法之一，具有簡單、快速、經濟等優點。此檢測方法所使用之*Salmonella typhimurium*(TA菌株)菌株無法自行合成組胺酸且具有多突變性，本實驗選用TA100之測試菌株，TA100於hisG46位置產生突變，hisG gene 含有histidine生合成第一個酵素的基因訊息，其將-GGG-(proline)取代為-GAG-(leucine)，所以TA100可用來檢測造成base-pair取代作用的突變劑。實驗所使用之培養基中缺乏histidine缺陷株成長所需之histidine，因此只有少數自發性回復突變之菌落會產生。若測試樣品中含有致突變性時，菌落數會高於自發性回復突變菌落數，並隨樣品濃度提高而增加。實驗中添加S9 Mix（大白鼠肝臟活化酵素），主要為模擬活體的代謝情況，使得在早期未被偵測的致癌前趨物或原致癌物(Procarcinogens)，經由肝臟微粒體酵素及輔助因子的作用後，轉變為具致突變性之代謝產物得以在生物體外直接被偵測出來。

其實驗步驟為：

- (一) 於2 mL soft agar內加入0.1 mL隔夜活化之TA菌株，與0.1 mL受測樣品及0.2 mL 0.5 mM Histidine/biotin溶液混合。
- (二) 實驗分兩組進行，一組加入0.5 mL S-9 Mix，另一組不加作為對照組，混合均勻後傾倒於預先製備之minimal agar上。S-9 Mix在4°C下可維持4~5小時之活性，故需於實驗當天新鮮配製，未使用完之S-9 Mix隨即丟棄不可重複使用。
- (三) 待soft agar凝固，於37°C倒置培養48小時後計數菌數。

十四、綠豆樣品蛋白質圖譜分析

(一) 蛋白質萃出液之製備

分別取5 g未經處理及經不同照射處理之綠豆樣品，於無菌水中浸泡隔夜（16小時）後，以研鉢將綠豆磨碎，加入25 ml 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)，將樣品置於冰上以均質機攪打90秒後，以10000 xg 離心20分鐘，所得之上清液即為蛋白質粗萃取液。以

Bradford protein-binding assay進行蛋白質定量，此定量方法利用Coomassie Brilliant Blue G-250與蛋白質結合的特性，當G-250

與蛋白質結合後，G-250的顏色會從紅色轉變成為藍色，於595 nm波長下可偵測得吸光值。這個方法的優點為G-250與蛋白質結合所需的時間短（大約2分鐘左右），而產生之G-250-蛋白質複合物(complex)可在溶液中維持較長的時間（大約1小時）。實驗步驟為：

1. BSA標準溶劑的製備

| Label | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| BSA(100 µg/ml)(µl) | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 |
| Citrate buffer(10mM)(µl) | 500 | 400 | 300 | 200 | 100 | 0 |
| 總體積(µl) | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 最終濃度(µg/ml) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |

2. 樣品的製備：將蛋白質粗萃液以phosphate buffer(pH 7.0)依序稀釋10X、20X、50X、100X、200X及500X。

3. 以四份去離子水加入一份Bio-Rad Dye reagent，混合均勻後，於試管中加入5 mL 稀釋後之Dye reagent及100 µL稀釋後之蛋白質粗萃液，於室溫下反應5~10分鐘後，以分光光度計測定於波長595 nm之吸光值。

(二) 聚丙烯醯胺膠體電泳層析方法

製備分離膠(separating gel)，由玻璃片邊緣將膠體注入鑄膠器中（約8分滿），加入二次蒸餾水將表面壓平。待膠體凝固後注入聚集膠(stack gel)至全滿並插入齒梳，過程中需注意盡量不要產生氣泡。

變性膠體電泳層析法(SDS-PAGE electrophoresis)實驗步驟：

1. 樣品處理：將待測之蛋白質粗萃取液以0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)稀釋成相同濃度，加入sample buffer及10% SDS(與樣品比例為1：1)，於100°C水浴中煮5分鐘後，立即放入冰水中降溫。
2. 電泳層析：將待測樣品以100 µl的針筒分別注入膠體凹槽中，設固定電流為15 mA，待樣品通過stacking gel達到與separating gel之界面時在加大電流至30 mA。當示蹤劑(dye)之指示線達玻璃底部前0.5公分時即可關閉電流，小心取下分離膠部分。
3. 圖譜呈現：以coomassie bluer R-250進行染色，置於shaker上搖晃1 hr使之染色均勻，再以甲醇/醋酸水溶液進行退染，以呈現蛋白質圖譜。

參、結果

一、專案申請進口不同產地之新鮮及經儲存未經炮製之火麻仁樣品

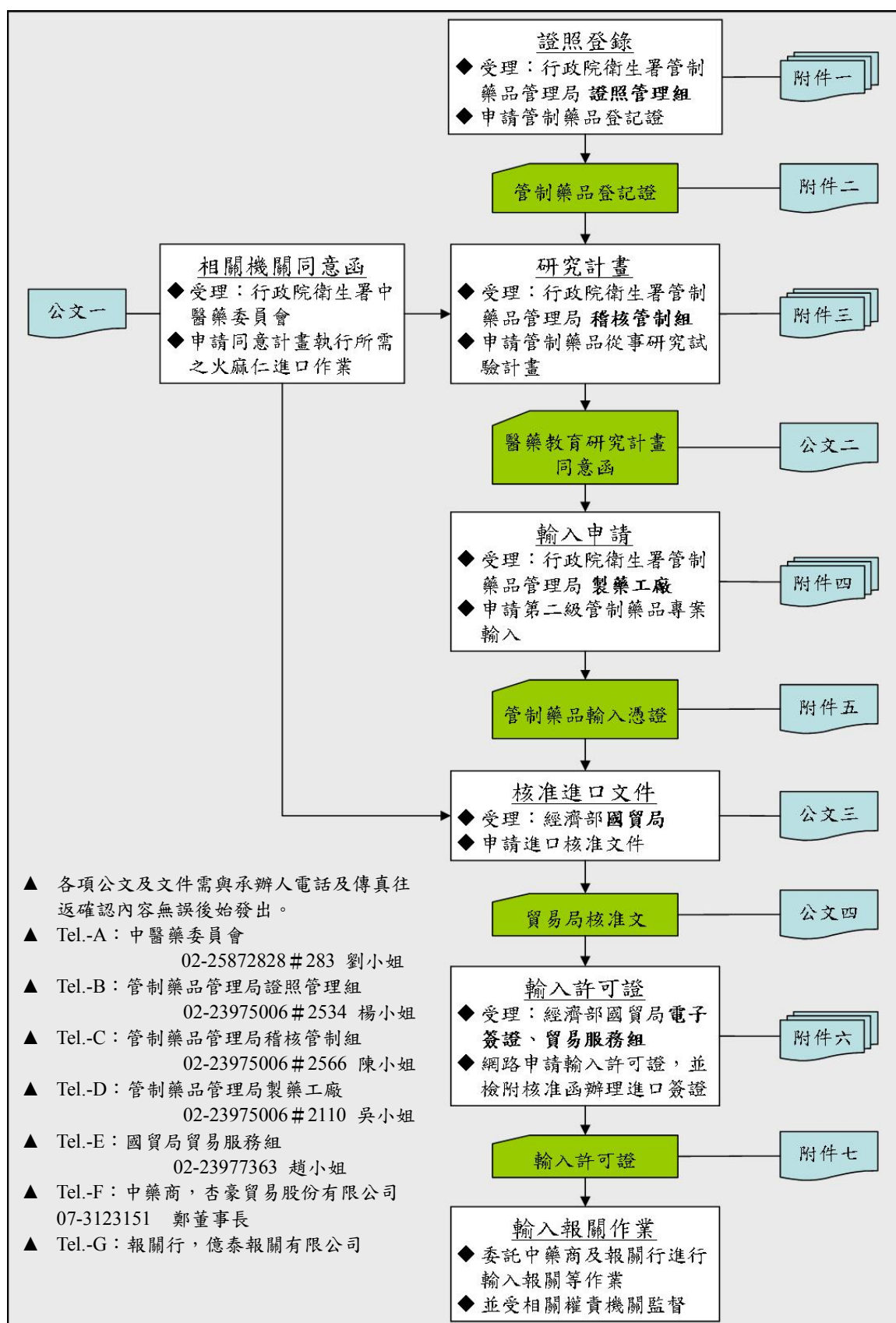
因火麻仁為二級管制藥品，需透過中醫藥委員會行文申請，於核可後始可進口。未經炮製之現年採收及儲存1~2年之火麻仁進口需先向行政院衛生署管制藥品管理局 證照管理組申請登記證，經衛生署管制藥品管理局 稽核管制組同意後，再向國貿局申請進口核准，於獲得輸入許可證後由鄭理事長協助，透過香港之中藥進口商進行採購進口。完整申請流程如下圖一所示，相關公文及文件列於附件中。

二、相關文獻蒐集

(一) 1. 火麻仁功效、產地及成分

中醫藥典中所記載的火麻仁，主要療效為潤燥、滑腸、活血，能夠治療腸燥便秘、痢疾、消渴以及月經失調等症狀⁽⁵⁾。火麻仁主產黑龍江、遼寧、吉林、四川、甘肅、雲南、江蘇、浙江等地^(4, 13)。

火麻仁種子營養成分豐富，含有30% 脂肪酸、20~25% 蛋白質、20~30% 的碳水化合物、10~15% 的可溶性纖維，及豐富的礦物質，特別是磷、鉀、鎂、鈣、鐵和鋅等；含有18種氨基酸(其中7種為必需氨基酸)和12種必需脂肪酸。火麻仁脂肪酸成分的部分包含4.5~9.5% 之飽和脂肪酸，主要有硬脂酸、花生酸及棕櫚酸等； 70~80% 之不飽和脂肪酸，包括油酸、亞油酸、亞麻油酸及棕櫚油酸等。火麻仁油中還含有花生四烯酸及硬脂酸等對人體有益的營養成分^(1, 8, 17, 19, 25)。其中必需脂肪酸中的主要成分亞油酸和亞麻酸的含量分別高達50~70% 和15~25%，亞油酸(linoleic acid, 18:2 omega-6; n6)及亞麻油酸(alpha-linolenic acid, 18:3 omega-3; n3)的比例接近3:1，此種比例與傳統地中海的飲食中之油脂比例相似，可降低冠狀動脈心臟病之發生率，是人體正常代謝所需的最佳比例^(25, 31)。對人體健康非常有益的γ-亞麻酸通常只有藍綠藻和黑醋栗種子油中含有（為乾重的1 % 左右），在常用的食用油中則不含γ-亞麻酸，而大麻種子油中γ-亞麻酸含量高達3~6%。



圖一 管制中藥材火麻仁之進口輸入申請流程

此外，大麻種子含有18種胺基酸，總含量約10.87 mg/100 mg，其中以麩胺酸(Glutamic acid)含量最高，精胺酸(Arginine)、天門冬胺酸(Aspartic acid)、白胺酸(Leucine)等次之，其中 Arginine 的含量比例較雞蛋蛋白及大豆蛋白為高⁽²⁵⁾。楊永紅於2004年提出火麻仁中含豐富之甘胺酸(Glycine)，雖然甘胺酸在哺乳動物體內可以利用其他物質合成，但禽類合成甘胺酸的能力則很低，甘胺酸為其必需胺基酸，因此以火麻仁作為禽類之飼料可提供禽類足夠之甘胺酸⁽¹⁹⁾。

2. 火麻仁外觀型態

火麻仁於秋季果實成熟時採收，除去雜質，曬乾備用。以子粒飽滿、乾燥、色白、淨仁無雜質者為佳。外果皮菲薄，內果皮堅脆。綠色種皮常粘附在內果皮上，不易分離。胚乳灰白色；子葉兩片，肥厚，富油性；氣微，味淡。以色黃、無皮殼、飽滿者佳^(1, 9)。目前市售之火麻仁依政府之規定均為炮製後之火麻仁，我們由中藥代理商、中藥房及鳥飼料店購入5批火麻仁，（圖二A）為不同批次之中藥用火麻仁，可見不同批次採購之火麻仁外觀大小及顏色有明顯差異，一般而言，火麻仁外觀呈扁卵圓形，平均長4~5.5 mm，徑寬2.5~4 mm。種子外觀顏色原為灰綠或灰黃色，但焙製後顏色偏褐，外表有細微網紋、具光澤，兩邊有明顯稜線，頂端尖基部鈍圓，有圓形或橢圓形之果柄脫落痕跡（圖二B）。內種皮薄易破碎，種皮綠色，將火麻仁泡水24小時後，將其外殼小心撥開可見少數種子有類似出芽的情形（圖三A），取出後去除內種皮可見2片乳白色上下交疊之子葉（圖三B），不似一般雙子葉種子有對稱之子葉及明顯之胚根。

（二）國際種子檢查規則 影響種子發芽率的因素包括種子品質、水分、溫度、光照，

而種子品質受品種、種子生產過程、種子貯藏條件、種子活力等影響。不論是一般或冷藏貯藏，影響種子貯藏的因子包括種子成熟度、種子含水量及貯存溫度等均會交互影響。為評估一批種子中的種子活力或發芽能力，以做為估算種子播種量的依據，國際種子檢查協會(International Seed Testing Association，簡稱ISTA)為一非商業性的國際組織，其主要宗旨在釐訂世界一致性的種子檢查技術及標準，以供世界各地種子檢查室遵循。其所建立的「國際種子檢查規則」(International Rules for Seed Testing)是目前國際上最具公信力者，為世界各國種子實驗室進行種子處理與活力檢驗的操作藍本。

其實驗室標準作業程序約主要有下列四步驟⁽¹⁸⁾：

1. 從充分混合的潔淨種子中隨機取400~800粒種子以進行活力或發芽檢驗。
2. 每一重複數為100粒種子，共分4重複，播種於發芽皿或發芽盒內潮溼的發芽介質（如濾紙）上，置放於適合的環境中發芽。具休眠性的種子在放入發芽箱發芽之前，需先放在2-5°C冷藏庫中濕層積(moist chilling; cold stratification)一段時間，先解除種子的休眠。
3. 發芽試驗期間需定期觀察發芽狀況，若為林木種子則發芽期較長，視植物種類而異。
4. 統計及發芽試驗結果報告，包括正常發芽與不正常發芽種子的百分率、未發芽種子數、空粒種子數與死亡種子數等。需注意的是：即使各地實驗室均遵循此一操作規範來進行種子發芽試驗，但同一批種子由不同實驗室進行的結果也常會有所差異。其原因包括：發芽試驗時，使用不一樣的介質、水分供應量的多寡、發芽箱內溫度設定的不同和光度的強弱、使用不同的播種容器，甚至發芽判定標準的差異（如胚根突出長度的不同、不正常發芽苗的判定等），發芽條件及判定標準的不同均使種子發芽率造成差異。

三、市售火麻仁樣品含水率測定。

植物種子發芽過程水分之吸收主要分為三階段，包含吸水期、延滯期及胚根萌發期。各階段間轉折之門檻點對種子發芽過程及其發芽率均極重要。種子中之含水量將影響輻射照射後種子之發芽率及輻射照射之抑制發芽效果。故輻射照射處理前之火麻仁及綠豆先測定其樣品含水率，每一來源及不同處理之樣品均作5重複，計算各種子之含水率(moisture)。實驗結果測得市售火麻仁樣品平均之含水率為 $8.97 \pm 0.17\%$ ，其中由新竹採購之火麻仁樣品含水量最高(10.69%)，台中、台南次之(9.3%、8.8%)，其次為高雄之樣品(7.1%)，而乾燥綠豆樣品平均之含水率為 $13.35 \pm 0.47\%$ 。

四、市售火麻仁發芽率試驗

參考台大種子研究室發芽試驗結果調查，鑑別種子發芽需注意以下狀況：

(一) 種子生理試驗常將可目視之胚根或胚莖突出的包覆組織當作已發芽

種子，計算時可能會產生誤差。

- (二) 少數死種子會因胚根吸水產生物理性膨脹而突出表面，若將之計算為發芽種子則會產生誤差。
- (三) 試驗者可自行定義一胚根（莖）長度的標準，不足者即不計算為發芽者。

本計畫中為判斷火麻仁種子之發芽情形是否因種子胚仍具有酵素活性而造成正常發芽現象，或是因為種子吸水膨脹所造成之物理現象，將發芽試驗分為三部分進行：

(一) 出芽測試

國際種子檢查協會對種子發芽率的檢查規則中並未規定種子在發芽檢驗前需先消毒，但由於種子表面經常附有各種細菌、黴菌等微生物，因此有些研究者於進行發芽試驗前會以殺菌劑、雙氧水或次氯酸鈉溶液來處理種子。本研究中取上述4個不同批次外觀完整之市售火麻仁各約1000顆進行發芽率探討，將樣品先以30%雙氧水浸泡15分鐘以降低種子萌發期間遭受微生物性感染的機率，再以無菌水浸泡48小時催芽後(黑暗中、20°C)，鋪於濕潤之培養床上，移入生長箱中，每日添加適當無菌水於20°C下培養，於第1、3、5日時計數種子之發芽數量並拍照紀錄。於黑暗中泡水催芽48小時後可見所有樣品中僅有少數火麻仁似有出芽的情形（圖四），此不正常出芽率約0.4~1%，於發芽床上繼續培養3天後，其胚根長度約為3~4 mm，量測所有出芽樣品之種子長度及其所露出胚根之長度，計算其平均值結果（如表一）所示。但培養至2週均未見其繼續增長，且所有出芽之胚根長度均短於種子長度，可定義為不正常出芽，而此市售火麻仁種子之正常發芽率為0%。

(二) 非生理性之出芽判定

1. 低溫抑制酵素活性下催芽：秤取30克（約1000粒）之火麻仁，將火麻仁於黑暗中浸泡於4°C及10°C的冰水中24~48小時，觀察其是否仍有出芽現象。結果（如圖五）所示，浸泡於冰水中48小時可見整批樣品中僅有少數火麻仁種子有出芽的現象，將火麻仁種子移至發芽床上繼續培養3~7天，出芽數目並未增加，且已出芽之火麻仁種子其胚根無繼續延長生長之現象。將種子浸泡於冰水中可抑制種子酵素活性而使種子無法正常發芽，因此推測此出芽現象為種子因吸水膨脹而露出胚根之物理現象而非生理性發芽。
2. 高溫破壞酵素活性：秤取30克（約1000粒）之火麻仁樣品，放

入100°C之烘箱中烘乾1~2小時後，以無菌水於20°C黑暗中浸泡24~48小時，觀察是否仍有出芽現象。結果（如圖六）所示，浸泡48小時後可見整批樣品中僅有少數火麻仁種子有出芽的現象（出芽率<1%）。將浸泡後之種子移至發芽床上培養3~7天，其出芽種子數目並未增加，且已出芽之種子其胚根無繼續延長生長現象。以高溫將種子烘乾可同時破壞種子之酵素活性使之無法正常發芽，因此推測此出芽現象為少數種子於炮製前已有微露之胚根，經烘乾後水分減少胚根縮入種殼內，因吸水膨脹而又露出胚根，此為物理現象而非生理性發芽。

持續觀察不正常出芽之上述火麻仁至第7天，可見所有火麻仁之出芽並無繼續生長、增長、或分化成根、莖的狀態，判斷此出芽均為不正常發芽或稱為死芽。此外，火麻仁種子經過冰浴抑制酵素活性及烘乾使酵素失去活性後，於黑暗中浸泡無菌水避光催芽，仍皆有出芽的現象。綜合以上之結果，推測此出芽現象為種子因吸水膨脹所造成之物理現象而非活種子之發芽現象，而實驗中所取市售火麻仁之種子正常發芽率為0%。

此試驗以芝麻種子進行高溫破獲酵素活性之相同測試，取未經處理之芝麻浸泡（圖七A），催芽12小時當看見部分樣品有些微出芽現象時，將此樣品放入65°C烘箱乾燥6小時後，少部分芝麻仍可見其出芽點（圖七B），再將此樣品以無菌水濕潤培養24小時，可見芝麻原已些微出芽之部分，雖經烘乾但泡水後仍膨脹變長（圖七C），且均無法繼續生長。此實驗印證火麻仁樣品於炮製前可能已有部分發芽，顯示芝麻有與火麻仁相同的非生理出芽現象。

五、輻射照射對種子發芽率的影響

（一）火麻仁出芽測試：

1. 照射後未經貯存立即種植：取上述各批次市售乾燥火麻仁分為未經照射及經2、4、6、8、10 kGy不同劑量照射處理（1000粒/組），照射後之火麻仁立即以上述方式浸泡催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養，每日計數並觀察種子之發芽數量。結果不同來源樣品之出芽皆無法繼續生長分化成正常植株，屬因吸水膨脹而露出胚根之“不正常發芽”。計數各處理之發芽數量，其三重複之平均出芽率結果（如表二）所示，各處理出芽率有明顯差異，其出芽率範圍為0.1~1.15%，其中以批次D由高雄採樣之火

麻仁樣品的出芽率最高，整體結果可見不同批次之市售乾燥火麻仁經輻射照射後之不正常出芽率與照射劑量間並無明顯相關性，顯示市售炮製火麻仁於照射前已無法正常發芽，所有種子之正常發芽率為0%。

2. 照射後貯存三個月後種植：取各批次市售乾燥火麻仁經2、4、6、8、10 kGy不同劑量照射處理後，於室溫下貯存三個月後進行上述發芽試驗。計數發芽率三重複平均之結果（如表三）所示，結果可見各不同來源樣品之出芽率仍有明顯差異，樣品之出芽率範圍為0.11~0.95%，但皆屬不正常出芽，已出芽之種子皆無法繼續生長分化成正常植株。

(二) 輻射照射對芝麻種子發芽率之影響：取市售黑芝麻樣品分為未經照射(0 kGy)及經1、2、3、4、6 kGy不同劑量照射處理，照射後以無菌水浸泡3小時避光催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養（25°C、12小時光照），每日計數並觀察種子之發芽數量。培養至第三天可見芝麻樣品之發芽數與照射劑量具有明顯之相關性，結果（如圖八）所示，0 kGy處理之芝麻培養至第三天可見明顯之根系、根毛生長均勻濃密，已具有展開之子葉。1 kGy處理者其根系已稍受影響，經2 kGy處理者其根系明顯較短，隨著照射劑量的增加種子的發芽數量隨之減少，其中4及6 kGy處理者雖有部分種子出芽，但出芽長度只有1~3 mm，與未照射者有顯著差異。計算此第三天之出芽率，樣品0 kGy及經1、2、3、4、6 kGy照射後之出芽率分別為90.2、88.2、82.7、80.6、77.4及51.3%。（如圖九）所示持續觀察至第6天之芝麻生長狀況，未經照射者植株最高，可見子葉生長；1 kGy處理者之植株高度明顯低於未經照射者，且其子葉的大小亦小於未經照射者。經2、3 kGy照射後之芝麻幾乎不見正常之莖部及子葉生長，且隨劑量增加，植株萎縮變色的數量隨之提高。顯示3、4、6 kGy高劑量處理之植株雖仍有出芽，但其無法正常分化、生長應屬不正常出芽。

(三) 輻射照射對乾燥綠豆種子發芽率之影響：由96年成果得知乾燥綠豆經6及8 kGy照射後可達完全抑制發芽。故取市售乾燥綠豆種子分為未經照射(0 kGy)及經1、2、3、4 kGy不同劑量照射處理（200粒/組，三重複），照射後以無菌水浸泡6小時避光催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養（25°C、12小時光照），每日計數並觀察種子之發芽數量。培養至第三天，綠豆種子之發芽數與照射劑量即可觀察到具有明顯之相關性，隨著照射劑量的增加，種子的發芽率

及生長速度隨之降低。樣品未經照射及經1、2、3、4 kGy照射後之出芽率分別為99.2、95.6、92.7、86.6及73.4%。觀察種子根部之發育情形，可見未經照射者根毛濃密其初生根皆有向地性，但隨著照射劑量增加，綠豆之根毛的發育越趨不健全。照射劑量越高者幾乎不見根毛生長，且根部較為瘦小、褐化。培養至第五天，高劑量照射之種子根部幾乎已停止生長，並出現褐化乾枯的現象（圖十）。綠豆莖部之發育亦有隨照射劑量的增加而生長越趨於緩慢之現象。培養至第六天，未經照射及1 kGy照射者其莖部之生長速度大於根部，未經照射者其莖部長度已可達20~50 mm，以高劑量照射者莖部長度僅有1~1.5 cm無法正常生長。培養至第14天，照射劑量為1 kGy者，大多數種子可發芽但生長速度較未經照射者慢，部分仍可分化為植株，但已有少數種子有褐化及死亡的現象；照射劑量為2 kGy時，種子的生長發育速度明顯變慢，死種子及褐化種子的數目也相對增加，部分種子可見第一對子葉半露，但生長速度緩慢或有停止生長的現象。當照射劑量達3 kGy以上，大部分種子已停止生長（根、莖部長度約達15 mm），種子褐變死亡的現象也越明顯（圖十一A）。（圖十一B）為上述各處理樣品於培養第6、8、10、12、14天所測量之植株莖部長度平均值，結果顯示未經照射者隨培養天數增加莖部明顯增長，至第14天時測得平均長度為 147.6 ± 7.2 mm；1 kGy處理者及植株亦隨培養天數增加莖部有增長，但長度均低於未經照射者。而經2、3、4 kGy照射處理者其莖部長度於6天至14天均維持於20~26 mm，顯示高劑量照射可明顯抑制綠豆植株出芽及生長。

六、劑量率對種子發芽率的影響

秤取30克（約1000粒）市售火麻仁樣品以夾鏈袋分裝好後，以不同照射劑量率(0.5、1、2.3 kGy/hr)分別照射0、2、4 kGy。照射後之火麻仁立即以無菌水浸泡6小時後避光催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養（25°C、12小時光照），每日計數並觀察種子之發芽數量並比較相同照射劑量不同劑量率間之出芽率的差異。結果顯示不同劑量率條件照射0、2、4 kGy之火麻仁種子經催芽48小時後皆可見樣品中有部分種子之出芽現象（圖十二），但出芽數目（出芽率均 $<0.5\%$ ）與劑量率並無明顯的相關性，將出芽之種子繼續培養7天，露出之胚根並無繼續生長分化成正常植株之現象，顯示此火麻仁樣品均為無發芽活性之樣品，其種子正常發芽率為0%。

本研究亦以綠豆探討輻射照射劑量率與發芽率之相關性。取乾燥綠豆以上述相同照射劑量(0、2、4 kGy)、不同照射劑量率(a)0.5、(b)1、(c)2.3 kGy/hr之條件進行照射，照射完成後依上述實驗方法浸泡催芽，於控溫(25°C)、控光(12小時光照)條件下培養7~14天，每日計數種子發芽數並比較不同劑量率間之差異。結果顯示，劑量率 1 kGy/hr之發芽率較0.5、2.3 kGy/hr之發芽率好。觀察培養第5天之綠豆根部發育情形，可見(b)組相對於(a)、(c)組而言，其根毛較為濃密且根尖部分白皙肥胖，其餘兩組之根尖部分則有褐化的現象且較細瘦(圖十三)。觀察培養第八天之各處理樣品之生長(如圖十四)，可見綠豆莖部的發育狀況亦以劑量率1 kGy/hr之樣品生長速度最快，在相同照射劑量的條件下比較三者莖部直立之高度及莖部總長度皆以(b)組之樣品為最佳，且1 kGy/hr處理者其子葉全露及半露的種子數量均略高於0.5及2.3 kGy/hr處理者。在培養達14天時，(b)組子葉半露之種子數目多於其餘兩組，褐變死亡之種子數目也較其餘兩組少。當照射劑量達2 kGy時，發芽率最高者為(b)組94%，其次為(c)組90.5%，發芽率最低者為(a)組89%；當照射劑量達4 kGy時，發芽率差異越趨明顯，最高者為(b)組達82.5%，其次(c)組為73%，發芽狀況最差者為(a)組67%。整體而言，在劑量率1 kGy/hr條件下進行照射之綠豆樣品其發芽率、生長速率及植株生長情形皆優於其餘兩者(劑量率0.5 kGy/hr、2.3 kGy/hr)，而劑量率2.3 kGy/hr之樣品植株之發育狀況較劑量率0.5 kGy/hr之樣品為差。且綠豆經2、4 kGy照射後所萌發之植株皆無法正常生長。

七、照射溫度對種子發芽率的影響

秤取30克(約1000粒)市售火麻仁樣品以夾鏈袋分裝好後，以不同照射溫度(10°C、20°C)相同照射總照射劑量(0、2、4 kGy)之條件進行照射。照射後之火麻仁立即以上述方式浸泡催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養，每日計數並觀察種子之發芽數量並比較相同照射劑量不同照射溫度之間出芽率的差異。結果顯示，不同照射溫度條件照射後之火麻仁種子經過泡水避光催芽48小時後，有部分種子有出芽之現象(圖十五)，但出芽數目與照射溫度之間並無明顯的相關性(出芽率均<0.5%)，將出芽之種子繼續培養7天，露出之胚根並無繼續生長分化成正常植株之現象，顯示此火麻仁樣品均無發芽活性，其種子正常發芽率為0%。

照射溫度對綠豆種子發芽率之影響：取乾燥綠豆樣品以相同劑量率、劑量，但不同溫度(10°C、20°C)下照射。照射完成後以無菌水浸泡

6小時避光催芽、移至發芽床中置入植物生長箱培養（25°C、12小時光照）條件下培養7~14天，每日計數並觀察種子之發芽數量，並比較不同照射溫度間之差異。結果（如圖十六）所示，輻射照射皆抑制種子之發芽，但於低溫(10°C)下進行照射之種子其發芽率及植株發育狀況皆較於20°C條件下照射之種子略佳。上述樣品培養至第八天時，分別計數其各種生長情況，結果（如圖十七）所示，可見經照射後之樣品生長情形與未經照射者有明顯差異，比較於10及20°C下經相同劑量照射之樣品，其子葉全露及半露的數量，無論照射1、2、4 kGy其10°C處理者之植株生長均略佳於20°C處理者。

八、水分含量對種子發芽率的影響

為瞭解種子水含量對輻射抑制發芽之影響，另取外觀完整之綠豆分為原乾燥組（水分含量13.4%）及先泡水3小時之濕潤綠豆組（水分含量36.5%），同樣以0、1、2、3、4、5、6、8 kGy不同劑量照射處理（250粒/組），照射後立即依上述方式進行催芽及培養，於培養後48小時時觀察並計數其種子發芽率。參考ISTA所訂種子檢查規則，將綠豆發芽情形分為三類，（如圖十八）所示其中A為正常發芽者，可見完整根、莖及葉的雛形；B為不正常發芽，因其雖有顯著發芽但不見完整根、莖及葉之雛形；C為不發芽者，其種子為完全不發芽或是所生長之胚芽長度小於1公分者。將上述各照射劑量處理樣品依此分類，計算其百分比結果（如圖十九）所示。圖中可見綠豆未經處理者出芽率高過99%，但其中93%為正常發芽，其餘少部分生長較慢屬於不正常發芽。綠豆經輻射處理後可見其輻射劑量其對影響甚據，隨照射劑量提高種子由正常發芽漸趨向不正常發芽。照射劑量大於2 kGy後，不發芽的比率快速增加，至6 kGy照射後幾乎完全不發芽。經3 kGy照射後，乾燥及濕潤綠豆均不見正常發芽之植株，但乾燥綠豆不正常發芽與未發芽的比率為60：40，而於濕潤綠豆之比率則為25：74，顯示水分含量較高的種子對輻射之敏感度較高；欲達相同之種子抑制發芽率，含水量較高者所需照射劑量較乾燥者為低。

九、火麻仁種子之發芽活性測試

（一）TEZ檢查法：

胚根(Radicle)為種子植物胚的組成部分之一，包括根冠和胚根生長點，為種子萌發時最先伸出種皮的部分，將來發育為植物主根。由於火麻仁之胚根包覆在上子葉類似出芽處凹槽中，造成觀察

不易。因此，參考台大種子研究室發芽試驗測試種子發芽活性之方法，以TEZ檢查法（氯化三苯基四唑 triphenyl tetrazolium chloride，或簡稱TTC、TZ法）進行種子活性分析，並以乾燥綠豆種子作為對照組。凡有生命活力的種子胚部，在呼吸作用過程中會伴隨之氧化還原反應的發生。當TTC滲入種胚的活細胞內，並作為氫受體被脫氫輔酶(NADH_2 或 NADPH_2)上的氫還原時，便由無色的TTC變為紅色的三苯基甲(TTF)，此現象顯示種子胚具生命活力，而無生命活力的種胚則無此反應。首先以綠豆作為對照試驗組，將綠豆樣品於 $30\sim 35^\circ\text{C}$ 之溫水中浸泡3小時使種皮軟化，並使之增強胚之呼吸強度，剝除種皮後，用刀片沿種子胚的中心線縱切為二個半粒，分別置於2組培養皿中，一組半粒不經過任何處理，而另一組半粒在沸水中煮5分鐘殺死胚，以作為對照觀察。兩組同時加入適量的0.5% TTC，將之置於 30°C 恒溫箱中0.5~1小時後觀察結果。實驗結果如圖五A所示，未經煮沸處理之綠豆樣品在其胚部及子葉皆染為均質之紅色，表示此綠豆樣品為具有生命活力之種子。而經過煮沸處理的綠豆樣品則無法被染色（圖二十），表示其種子胚喪失了生命活力。由此實驗結果確立了TTC染色法針對種子胚部之生命活力測試的可行性。另取經輻射照射後之綠豆樣品進行對照，經輻射照射後之綠豆種子其發芽率隨照射劑量增高而越低，而以TEZ檢查法對照射後之綠豆種子進行染色，隨照射劑量增高，種子染色之紅色越淡，且染色不均勻之現象越明顯，表示經照射後之種子失去其發芽活性（圖二十一）。

將市售經炮製火麻仁種子以TEZ檢查法進行染色，結果僅於胚部有部分呈現不均勻之紅色（圖二十一），表示其部分之酵素具有活性，但植株之發芽為種子生理代謝整體所呈現之正常生命力，保留種子部分酵素活性並不足以使種子正常發芽，僅有一小段的出芽後即呈休止狀態。此結果顯示市售經炮製火麻仁種子並不具發芽之活性。

（二）多酚氧化酶活性測試

以多酚氧化酶(polyphenol oxidase)活性為指標，多酚氧化酵素普遍存在於蘋果、馬鈴薯、香蕉及絲瓜等蔬果類中，當蔬果組織受到傷害後暴露於空氣中，酚類化合物會轉變為褐色的黑色素而造成組織褐變。因此實驗中亦測試香蕉之多酚氧化酵素活性作為對照組。實驗結果（如圖二十二）所示，市售炮製火麻仁、乾燥綠豆種子及荔枝果皮中無法測得多酚氧化酶之活性，而作為對照組之香蕉

果皮則可測得酵素活性。荔枝果皮無法測得多酚氧化酵素活性之結果與文獻相符合。根據文獻所載荔枝果皮中的活性於採收後24小時內會快速下降，因此無法偵測⁽²³⁾。有關多酚氧化酵素與種子發芽活性相關性之探討的文獻甚少，於2006年麥類作物學報⁽³⁾指出多酚氧化酶活性與小麥穗發芽率成正相關，但酶含量與酶活性之間並無顯著相關性，因此根據本實驗結果，推測市售火麻仁種子經炮製後已失去酵素活性或種子內並無多酚氧化酶存在。因此，參考台大種子研究室發芽試驗測試種子發芽活性之方法，以TEZ檢查法（氯化三苯基四唑 triphenyl tetrazolium chloride，或簡稱TTC、TZ法）進行種子活性分析，並以乾燥綠豆種子作為對照組。經輻射照射後之綠豆種子其發芽率隨照射劑量增高而越低，而以TTC檢查法對照射後之綠豆種子進行染色，隨照射劑量增高，種子染色之紅色越淡，且染色不均勻之現象越明顯，表示經照射後之種子失去其發芽活性（圖十六）。將市售經炮製火麻仁種子以TTC檢查法進行染色，結果樣品僅於胚部有部分呈現不均勻之紅色（圖十六），顯示此為不具發芽活性之種子，比對前述實際發芽率測試之結果，確認此火麻仁種子均無發芽活性。市售經炮製火麻仁種子之正常發芽率為0%。

十、市售火麻仁之微生物含量測定

因前述火麻仁樣品在育苗實驗時常觀察到種子發霉、長菌及異味產生，因此進行火麻仁輻射滅菌劑量探討，期樣品於輻射照射抑制發芽時同時達到滅菌之效果。取3批不同批次之市售火麻仁樣品，每個樣品進行3重複取樣，取樣前先將樣品混合均勻後以無菌操作方式稱取15 g置於樣品袋中進行照射。輻射劑量率為1.2 kGy/h，照射溫度為室溫(25±2°C)，樣品經不同照射時間取樣，以得到所需之照射劑量，完成照射處理後之樣品立即進行微生物含量的測定。（圖二十三）為將未經照射之不同批次(B、C、D)火麻仁樣品直接放置在平面培養基上培養兩天，觀察可見不同批次火麻仁樣品生長之菌數種類及含量有很大差異。（圖二十四A）表示編號C火麻仁樣品未經照射直接放置在PCA平面培養基上培養2天的情形，可見未經照射之樣品上佈滿黴菌與細菌。將其樣品懸浮液稀釋200倍後塗布於PCA平面培養基上，亦為長滿各類微生物（圖二十四B）。（圖二十五）為火麻仁編號B樣品未經照射者其培養基上生長許多黴菌與細菌，而經4 kGy照射後菌數則明顯減少。（表四）為不同批次火麻仁樣品經不同劑量照射後樣品中微生物之殘存率，未經照射之火麻仁樣品中總好

氧微生物菌數以編號C之批次為最高約 4×10^5 CFU/g，經4 kGy照射後微生物之殘存量小於237 CFU/g，而6 kGy照射後樣品均達完全無菌。黴菌含量則以編號B之批次為最高，但菌數含量小於157 CFU/g，經6 kGy照射後則完全無菌。其三個批次樣品中均未測到腸內菌之存在。

十一、火麻仁經加馬照射前、後之外觀顏色測定

各批次火麻仁於照射前事先測定外觀顏色，因產地來源不同及炮製過程處理方法之差異導致各批次火麻仁未經照射前樣品間顏色即有差異（表五）。經輻射照射後，其外觀顏色相較於未照射之樣品並未有明顯的差異。根據所測得之L、a、b數值，經4 kGy照射後樣品a、b數值略微下降。但整體而言，火麻仁樣品外觀顏色大多偏紅、黃色，經輻射照射後並無明顯改變其外觀顏色。

十二、火麻仁經加馬照射前、後之脂肪酸含量分析

(一) 輻射照射處理後立即測定：對於脂肪含量高之樣品經輻射照射後需特別注意樣品中脂肪酸劣化及油脂過氧化之影響。經由測定結果顯示，市售火麻仁主要脂肪酸成份為亞麻油酸(linoleic acid)、 α -次亞麻油酸(α -linoleic acid)、油酸(oleic acid)及棕櫚酸(palmitic acid)，經輻射照射後脂肪酸主要成份含量之變化差異不大（表六）。其中棕櫚酸、硬脂酸(stearic acid)、花生酸(arachidic acid)之含量隨照射劑量越高有略為提高之現象。棕櫚酸經4 kGy照射後由7.63上升至7.72；硬脂酸由2.97上升至2.99；花生酸由0.80上升至0.82；亞麻油酸則有隨照射劑量增加而減少之趨勢，由54.06下降至53.88。隨著輻射照射劑量的增加，單元不飽和脂肪酸的含量變異不大，多元不飽和脂肪酸有隨照射劑量增加而漸減的趨勢，由76.45%略為降低至76.29%，而飽和脂肪酸成份則由12.17%略為提升至12.3%。但以整體而言，輻射照射對於火麻仁脂肪酸之成份影響不甚明顯。

(二) 輻射照射處理後貯存三個月後測定：

經由測定結果顯示，市售火麻仁經輻射照射處理後，於室溫下貯存三個月，其成份中含量較少之己酸及辛酸於貯存後即無法測得（表六）。棕櫚酸、硬脂酸及 γ -次亞麻油酸之含量較貯存前略為偏高。棕櫚酸由7.6~7.7之間上升至7.8~7.9之間；硬脂酸由2.98提升至3.03； γ -次亞麻油酸則由0.96提升至1.01。經貯存三個月之後，飽和脂肪酸之含量由12.2%略為提升至12.4%，但整體而言，貯存後之火麻仁樣品其脂肪酸之成份並無顯著差異。

十三、火麻仁經加馬照射前、後之酸價及過氧化價分析

- (一) 輻射照射處理後立即測定：根據文獻報導油脂經照射後其酸價及過氧化價值會上升，（如表七）所示，市售火麻仁中含豐富之脂肪酸，於輻射照射前測定其酸價為2.59 mg KOH/g，過氧化價為17.37 meq/kg。經輻射照射後，照射劑量達2 kGy時，其酸價及過氧化價值分別為2.65 mg KOH/g及15.33 meq/kg；當照射劑量達4 kGy時，酸價及過氧化價值分別為2.27 mg KOH/g及15.52 meq/kg。實驗結果顯示，市售火麻仁樣品經輻射照射劑量達4 kGy時，酸價及過氧化價值有略為上升之趨勢，但與照射劑量並無明顯之正相關性。
- (二) 輻射照射處理後貯存三個月後測定：市售火麻仁於室溫下貯存三個月後測定其酸價為2.61 mg KOH/g及過氧化價值為15.71 meq/kg。經照射劑量2 kGy處理之火麻仁樣品於貯存三個月後測定其酸價及過氧化價值分別為3.07 mg KOH/g及16.57 meq/kg；當照射劑量達4 kGy，貯存三個月後之酸價及過氧化價值分別為2.76 mg KOH/g及16.11 meq/kg。實驗結果顯示，市售火麻仁樣品經輻射照射處理後於室溫下貯存三個月，酸價及過氧化價值有略為上升之趨勢，但與照射劑量並無明顯之正相關性。

十四、致突變性測試

以安姆試驗判斷一物質是否有致突變性之標準，為當測試樣品所誘導之回復突變菌落數(His^+ revertants)高於自發回復突變菌落數之兩倍以上，或具有濃度反應關係及表示次測試樣品具有致突變性。試驗結果（如圖二十六）所示，經輻射照射(2 kGy、4 kGy)後之市售火麻仁樣品，其誘導*Salmonella typhimurium* TA100菌株之 His^+ revertants菌落數目均與自發性回復突變之菌數相近，而作為對照組織商業化致突變劑2-aminifluorene(2-AF)則可明顯地誘導菌株回復突變。此實驗結果證實以輻射照射抑制種子發芽不會誘發其致突變性。

十五、綠豆樣品蛋白質圖譜分析

綠豆樣品未經照射及經輻射照射(2 kGy、4 kGy)後以無菌水浸泡6小時，分別以研鉢磨碎後以均質機攪打萃取綠豆之蛋白質粗萃液。所得之蛋白質粗萃液經處理後分別進行變性及非變性膠體電泳層析，觀察經輻射照射後綠豆之蛋白質組成是否改變，並比較不同劑量率(0.5、1、2.3 kGy/hr)所得蛋白質圖譜之間的差異性。結果（如圖二十七）所示，輻射照射無明顯影響蛋白質圖譜的表現，此外，不同劑量率間之蛋白質圖譜差異甚小。

肆、討論

依文獻所載，不同種子對輻射之敏感度不會相同，常見之食用種子中對輻射之敏感度較高為花生，其次為紅豆、大豆，最不敏感者為綠豆，以0.9 kGy照射處理後花生及紅豆已完全不發芽，而大豆及綠豆還能出芽，但所出芽已屬不正常發芽⁽²⁰⁾，此結果與我們試驗綠豆測得之結果相近。

休眠的種子相較於幼胚正在發育的種子對輻射線較不敏感，而休眠種子對放射線之敏感度又受種子內部胚芽細胞的分裂與分化情形及種子含水量的影響。一般多係以輻射處理後，在某一特定時間內之種子經發芽後植株成長高度，以此作為種子對放射線敏感程度的標準。含水量不同造成之放射線敏感度的差異係因種子在受照射所產生之自由基濃度不同有關。因其在高含水量時自由基反應較多，且含水的胚部之生理活性亦強，因此水分含量較高的種子對輻射較敏感⁽¹¹⁾。我們以乾燥及濕潤之不同含水量綠豆樣品進行照射探討，結果顯示種子含水量確為影響其發芽狀態之重要因素。有研究指出種子照射後立即種植對其抑制生長的程度會明顯低於照射後經貯存的種子⁽¹¹⁾。照射後的種子貯存造成抑制發芽之效應值得進一步探討。

第一年之研究為使火麻仁於進口後儘快完成實驗，故以乾燥種子之綠豆進行對照測試，期獲得輻射照射抑制種子發芽之相關資訊，以應用於第二年研究之生鮮火麻仁的抑制發芽試驗。新鮮火麻仁之採購於本計畫議價招標後即立刻辦理（96年8月），但手續繁複，火麻仁為二級列管性植物，亦為列管中藥材。此管制藥材為國內第一次進口，衛生署管制藥品管理局、經濟部國貿局、農委會動植物防疫檢疫局、中醫藥委員會、報關行及校方辦理等人員皆為第一次承辦，公文往返、電話聯繫約100~150通，仍無法進口。根據實驗結果，市售經炮製之火麻仁於水

中浸泡吸濕後有極少數

種子出現出芽之現象，但此出芽現象應為少數火麻仁種子於炮製前已有些微之出芽（胚根），經烘乾後之乾燥胚根體積變小，縮入種殼內。種子一旦吸水膨脹破裂則露出胚根，此為物理現象而非正常發芽之生理現象。因此，以不同照射劑量處理之火麻仁種子其出芽率與照射劑量並無顯著之相關性，推測造成其出芽率高低與火麻仁炮製前之稍有出芽狀況及炮製手法過程具有密切之相關性。以多酚氧化酶活性作為指標，探討市售經炮製火麻仁之發芽活性，結果顯示市售炮製火麻仁種子中無法測得多酚氧化酶之活性。而以TTC染色法分析種子胚部之生命力，火麻仁

種子其胚部及子葉部份呈現染色不均勻，子葉部分均不見紅色染色，顯示此種子無發芽活性。綜合以上之結果顯示市售火麻仁種子不具生命活力及發芽活性，且證實火麻仁之正常發芽率為0%，而少數種子之出芽為非正常發芽之生理現象。

本計畫目標為解決進口火麻仁無法完全抑制發芽的問題。但因未炮製火麻仁無法進口，故第二年計畫以市售火麻仁、綠豆及芝麻三種種子進行輻射照射對發芽抑制率之測試，以市售火麻仁進行輻射照射後對樣品外觀色澤及成分之影響測試。結果顯示市售火麻仁種子不具生命活力及發芽活性，其正常發芽率為0%，而少數種子之出芽為非正常發芽之生理現象。以6 kGy照射可對乾燥綠豆、芝麻達顯著抑制發芽，而4 kGy照射對綠豆及芝麻雖分別有73.4%及77.4%的發芽率，但其植株均無法繼續生長。相同劑量照射下(4 kGy)，種子含水量較高之發芽抑制率較高，10°C低溫照射之抑制發芽率較20°C照射者為低。此外照射劑量率亦影響其抑制發芽率，綠豆以0.5 kGy/h劑量率照射者(4 kGy照射之發芽率為67%)抑制發芽效果較1及2.3 kGy/h為高(4 kGy照射之發芽率分別為82.5%及73%)，即照射條件會顯著影響發芽率。目前測試之火麻仁樣品均為合法進口之經炮製火麻仁，實驗中也見火麻仁之出芽率極低，且出芽者均為無法正常生長之不正常發芽。

於發芽測試中顯示火麻仁有相當高之含菌量，加馬照射抑制火麻仁之發芽應可同時達到抑菌及抑蟲之效果，故進而測試其加馬照射後之微生物含量變化。本研究結果顯示不同批次市售火麻仁之微生物含量及微生物相有極大差異，其原始好氧菌數為 $4.4 \times 10^5 \sim 7.9 \times 10^2$ CFU/g、黴菌菌數為 10^2 CFU/g，樣品中未測得腸內菌的存在。樣品經8 kGy照射後可完全滅菌。而樣品直接放置觀察者於6 kGy照射處理後亦不見任何微生物生長。本實驗室多年研究結果顯示受測中藥材經所需滅菌劑量照射後之藥材外觀及品質無明顯變化，且照射前、後之指標成份含量或主成份之HPLC圖譜亦無明顯差異，加馬射線照射應是中藥滅菌貯存之良好方法^(23-28, 30)。以輻射照射可同時達到抑制發芽及滅菌的效果，但輻射照射後火麻仁之成份變化有待進一步分析。

對於脂肪含量高的樣品，照射、貯存處理等需特別注意樣品中脂肪酸劣化及油脂過氧化的影響^(30, 34)。因火麻仁的脂肪含量高達30%，照射後對其脂肪酸、氨基酸的成分，及酸價與過氧化價等油脂變化有探討的必要。實驗中探討該照射條件處理後火麻仁之外觀顏色、脂肪酸、酸價、過氧化價及突變率等分析，結果經抑制發芽所需之劑量處理對火麻仁種子之成分及外觀於貯存前後並無明顯影響，顯示輻射照射是抑制種

子發芽之適當方法。本研究因未炮製火麻仁無法進口，故經計畫審查改以綠豆及與火麻仁相近之芝麻種子進行輻射照射抑制發芽測試，與火麻仁所需之抑制發芽劑量或有差異，若新鮮火麻仁能進口，本實驗室可即刻進行所需抑制發芽之劑量測試。

伍、結論與建議

本研究完成火麻仁的種源、主要成分及功效等相關資料的蒐集，參考國際種子檢查規則與基隆海關對火麻仁發芽之測試方法進行比對，擬建立評估火麻仁發芽率之方法。成果可提供植物種子培育、發芽評估指標，以及照射條件（如種子含水量）與抑制種子發芽效率間相關性之基本資料。在新鮮火麻仁進口前，以乾燥綠豆種子及芝麻進行輻射照射劑量之抑制發芽率探討、種子水分含量對輻射抑制發芽率之影響測試，及照射對火麻仁之滅菌測試，顯示輻射照射可被應用於抑制種子發芽並達到滅菌效果，但不同種子間所需之輻射滅菌劑量或有差異，輻射抑制火麻仁發芽之劑量仍待未炮製火麻仁進口後進行確切測試。若新鮮火麻仁能進口，本實驗室可即刻進行所需抑制發芽之劑量測試。本研究結果將可提供以輻射照射處理抑制火麻仁發芽之立法依據參考。

因未炮製之火麻仁屬管制物品，雖依繁複程序向相關單位行文、電話溝通、聯絡仍無法進口，故修改第二年之研究內容增加照射對綠豆及芝麻抑制發芽之探討以達研究目標。建議未來若有管制（物品）藥品進口以做為研究用時，請由政府單位專責進口後交付學術單位進行之。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號CCMP96-RD-030、CCMP97-RD-101提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

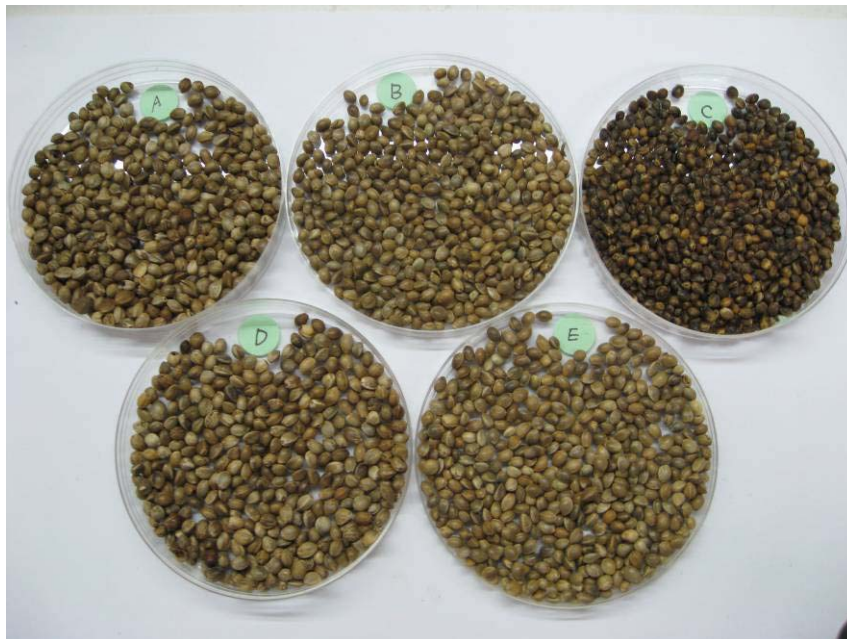
1. 尹燕霞、吳和珍、魏群。2003。火麻仁的研究發展。中國中醫藥信息雜誌，10(6)：92-94。
2. 王守經，馮雙慶，於子厚，孫守義，鄒積萬，雷鵬。2003。生薑輻照抑制發芽貯藏工藝研究。核農學報，17(2)：115-118。
3. 王鳳寶、傅金鋒、董立峰。2006。多酚氧化酶活性與小麥抗穗發芽的關係及抗穗發芽新品種秦麥三號的選育。麥類作物學報。26(5)：97-100。
4. 任漢陽、張瑜、劉紅雨、曹俊嶺。2003。火麻仁研究進展。河南中醫，23(11)：78-80。
5. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組，中華中藥典，第一版。行政院衛生署，台北，民國93年。
6. 行政院衛生署中醫藥委員會，中藥用藥安全與實務。行政院衛生署中醫藥委員會，台北，民國94年。
7. 行政院衛生署中醫藥委員會，中藥材品質管制—組織型態學鑑定，第一版。行政院衛生署中醫藥委員會，台北，民國88年。
8. 行政院衛生署中醫藥委員會，中藥對照用指標成分物理化學資料彙編。行政院衛生署中醫藥委員會，台北，民國91年。
9. 行政院衛生署中醫藥委員會，臺灣常用藥用植物圖鑑，第二版。行政院衛生署中醫藥委員會，台北，民國92年。
10. 吳家駒、楊瑞森、錢明賽、郭俊德。1996。照射蒜頭推廣工作。核子科學，33(1)：52-57。
11. 李文權。1999。放線線生物學，第八章放射線對植物組織與器官的影響—放射線對植物種子的影響。九州圖書文物有限公司，225-230。
12. 李志恆。1995。大麻及其類緣植物、種子的鑑別比對，成分分析，藥理及毒理研究。八十四年度衛生署委託研究計畫執行成果報告。計畫編號：DOH84-TD-090。
13. 李欣。1998。對《中國藥典》火麻仁的討論。現代中藥研究與實踐，3(12)：58。
14. 財政部關稅總局。2007。我國進出口貨物數量與價值（正本）查詢表，<http://web.customs.gov.tw/statistic/statistic/mnhStatistic.asp>。
15. 張建偉、陳云堂、楊保安、胡秀菊、孟祥峰、劉秋芳。2002。(60)Co γ 射線輻照對板栗果影響效應的研究。食品科學，23(9)：108-112。
16. 梁紅、蔡業統、劉勝洪。1999。銀杏種子輻照效應及其保鮮的初步研究。核農學報，13(1)：11-16。
17. 陳建華，臧鞏固，趙立寧，李育君，唐慧娟。2003。大麻化學成分研究

- 進展與開發我國大麻資源的探討。中國麻業，25(6)：266-271。
18. 陳舜英。2007。國際種子檢查協會林木種子的發芽檢驗—王世彬教授專題演講節錄。林業研究專訊，12(1)：16-17。
 19. 楊永紅，誠靜容。2004。大麻的實驗分類學研究。中國麻業，26(4)：164-169。
 20. 劉瓊英、鄺炎華、鄭粵美。1994。食用性植物種子輻射敏感性的研究。華南農業大學學報，15(4)：85-91。
 21. 鄭建詒、陳本、鄭守訓。1982。大麻仁與印度大麻種子之比對鑑定研究。藥物食品檢驗局調查研究年報，2：6-12。
 22. 鮑金勇、趙國建、梁淑如、楊明珊、楊公明。2005。香蕉皮多酚氧化酶和過氧化物酶特性之研究。食品科技。11：17-20。
 23. 簡秋燕、謝慶昌。2004。荔枝果皮褐化與多酚氧化酵素及過氧化酵素之關係。興大園藝。29(1)：1-10。
 24. A.O.A.C. 1990. Peroxide value of oils and fats titration method, In Official Methods of Analysis, 15th Ed.(Helrich, K., rd.), Sec 965.33 pp.656. Association of Official Analytical Chemists, Virginia.
 25. Callaway JC., 2004. Hempseed as a nutritional resource. An overview. Euphytica, 140: 65-72.
 26. Chaudhuri SK. 2002. A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil(*Lens culinaris* Medik.)seeds by germination efficiency and seedling growth test. Radia Phy and Chem, 64(2): 131-136.
 27. Chou FI. 1999. The sterilization of pollen with cobalt-60 gamma radiation-a study of the radiation resistance of strain isolated from pollen. Plant Pathol Bull, 7: 23-28.
 28. Chou FI., Chung HP., Wen HW., Chen CT., Chang CG. 2001. The sterilization of Astragali Radix with gamma-ray irradiation. Nucl Sci J, 38: 271-278.
 29. Chou FI., Chung HP., Wen HW., Wei YY., Chen CT., Chang CG. 2001. Sterilization of Chinese medicinal herbs with cobalt 60 gamma irradiation. Nucl Sci J, 38: 279-288.
 30. Chou FI., Wen HW., Chung HP. 2005. The Effect of Gamma Irradiation on Microbial Decontamination and Chemical and Sensory Characteristic of Lycium Fruit. Radia Phy and Chem, 75: 593-603.
 31. Hakki EE., Kayis SA., Pinarkara E., Sag A. 2007. Inter simple sequence repeats separate efficiently hemp from marijuana(*Cannabis sativa* L.). Electron. J. Biotechnol., 10(4): 570-581.
 32. Huang SL., Chen YF., Chiang WC. 1994. Amino acids, fatty acids and proxi-

- mate composition of the seed of adlay. Food Sci,(Taiwan, R.O.C.)21: 67-74.
33. Mortelmans K., Zeiger E. 2000. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutat. Res. 455: 29-60.
 34. Ouattara B., Giroux M., Smoragiewicz W., Saucier L., Lacroix M. 2002. Combined effect of gamma irradiation, ascorbic acid, and edible coating on the improvement of microbial and biochemical characteristics of ground beef. J Food Prot, 65: 981-987.
 35. Perez MB, Avelano MI, Croci CA. 2007. Growth inhibition by gamma rays affects lipids and fatty acids in garlic sprouts during storage. Postharvest Biol Technol. 44(2): 122-130.
 36. Ramakrishna N, Lacey J, Smith JE. 1991. Effect of surface sterilization, fumigation and gamma-irradiation on the microflora and germination of barley-seeds. Int J Food Microbiol, 13(1): 47-54.
 37. Sánchez-Bel P., Martínez-Madrid MC., Egea I., Romojaro, F., 2005. Oil quality and sensory evaluation of almond(*Prunus amygdalus*)stored after electron beam processing. J Agric Food Chem, 53: 2567-2573.
 38. Sommer NF., Fortlage RG. 1996. Ionizing radiation for control of post-harvest diseases of fruits and vegetables. Adv Food Res, 51: 147-193.
 39. Stone CA., Odin C., Howard J., Mumaw LD. 1994. High-School Experiments in Food Irradiation. Abs Pap Am Chem Soc, 207: 91-NUCL.
 40. Takehisa M., Ito H. 1986. Experiences of Food Irradiation in Japan. Food Rev Int, 2: 19.
 41. Thakur BR., Singh RK. 1994. Food Irradiation-Chemistry and Applications. Food Rev Int, 10: 437-473.
 42. WHO, 1981. Wholesomeness of irradiated food: report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee, WHO Tech. Rept, Ser No. 651. World Health Org., Geneva.
 43. WHO, 1988. Food Irradiation: A technique for preserving and improving the safety of food. WHO, Geneva.
 44. WHO, 1999. High dose irradiation. In: Wholesomeness of Food Irradiated with Doses Above 10 kGy, vol. 890. World Health Organization Technical Report Series, Geneva.
 45. Wen, HW., Chung, HP. Wang, YT. and Chou. FI. 2008. Efficacy of gamma irradiation for protection against postharvest insect damage and microbial contamination of the adlay. Postharvest Biology and Technology. 50:208-215.

柒、圖、表

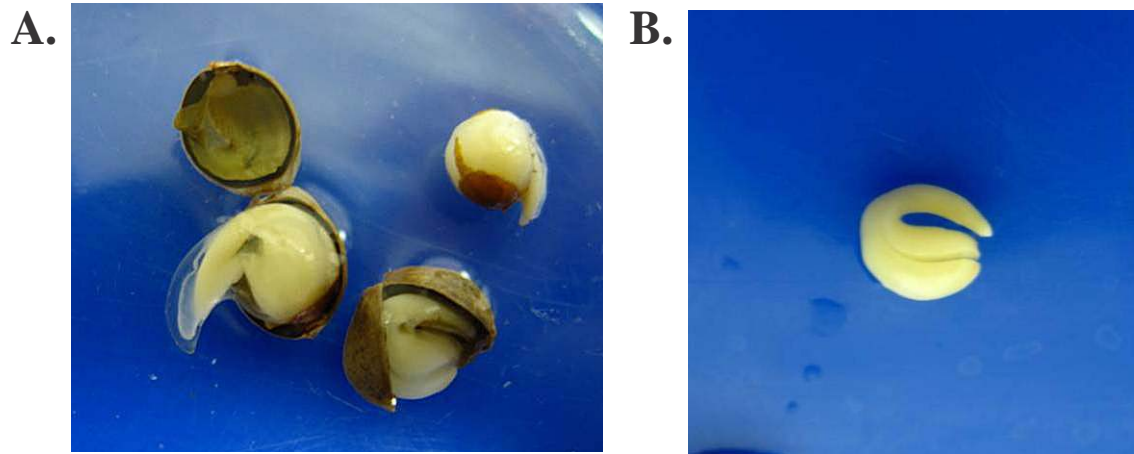
A.



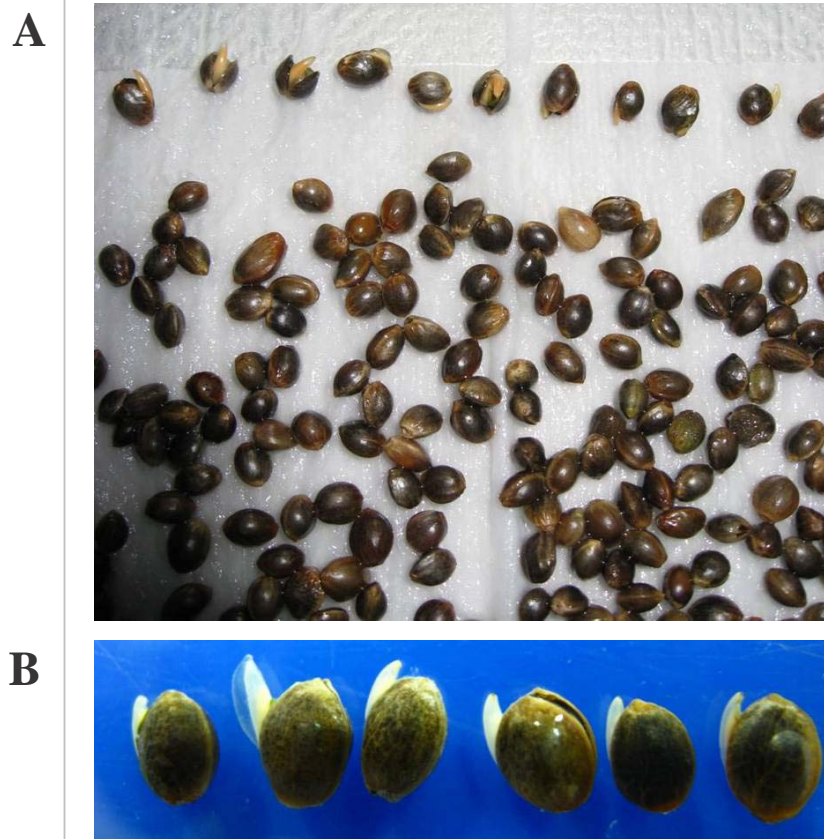
B.



圖二 A.不同批次之中藥用火麻仁於大小、外觀及顏色上具有明顯差異；B.火麻仁外觀呈扁卵圓形，兩邊有明顯稜線，而其表面具有光澤感並有細小網狀紋路。



圖三 A.泡水24小時後之火麻仁，將其外殼撥開可見種子有類似出芽的情形；B.去除內種皮後可見2片乳白色上下交疊之不對稱子葉。外側子葉較大，內側子葉較小。



圖四 各批次未經照射之市售火麻仁先泡水催芽48小時後，鋪於濕潤之培養床上，移入生長箱於黑暗中培養48小時，A.可見整批樣品中僅少數火麻仁種子有出芽，多數為完全不發芽的種子；B.將上述出芽之火麻仁放大觀察可見其出芽長度有些不同，但此出芽現象皆屬不正常出芽。

A

10°C 浸泡 24 小時



B

冰浴浸泡 24 小時



C

冰浴浸泡 48 小時



D

20°C 浸泡 24 小時



圖五 A.為將火麻仁種子於10°C冰水中避光催芽浸泡24小時後；B.為將火麻仁種子以冰浴避光催芽浸泡24小時後；C. 為將火麻仁種子以冰浴避光催芽浸泡48小時後；D. 為於常溫20°C無菌水浸泡24小時(控制組)後，所挑出之少數出芽種子。將出芽之種子於濕潤濾紙上繼續培養5~7天，其胚根皆無繼續生長分化之現象，故此出芽現象屬非生理性出芽。

A

100°C 烘乾 1 小時後，浸泡 24 小時



B

100°C 烘乾 2 小時後，浸泡 24 小時



C

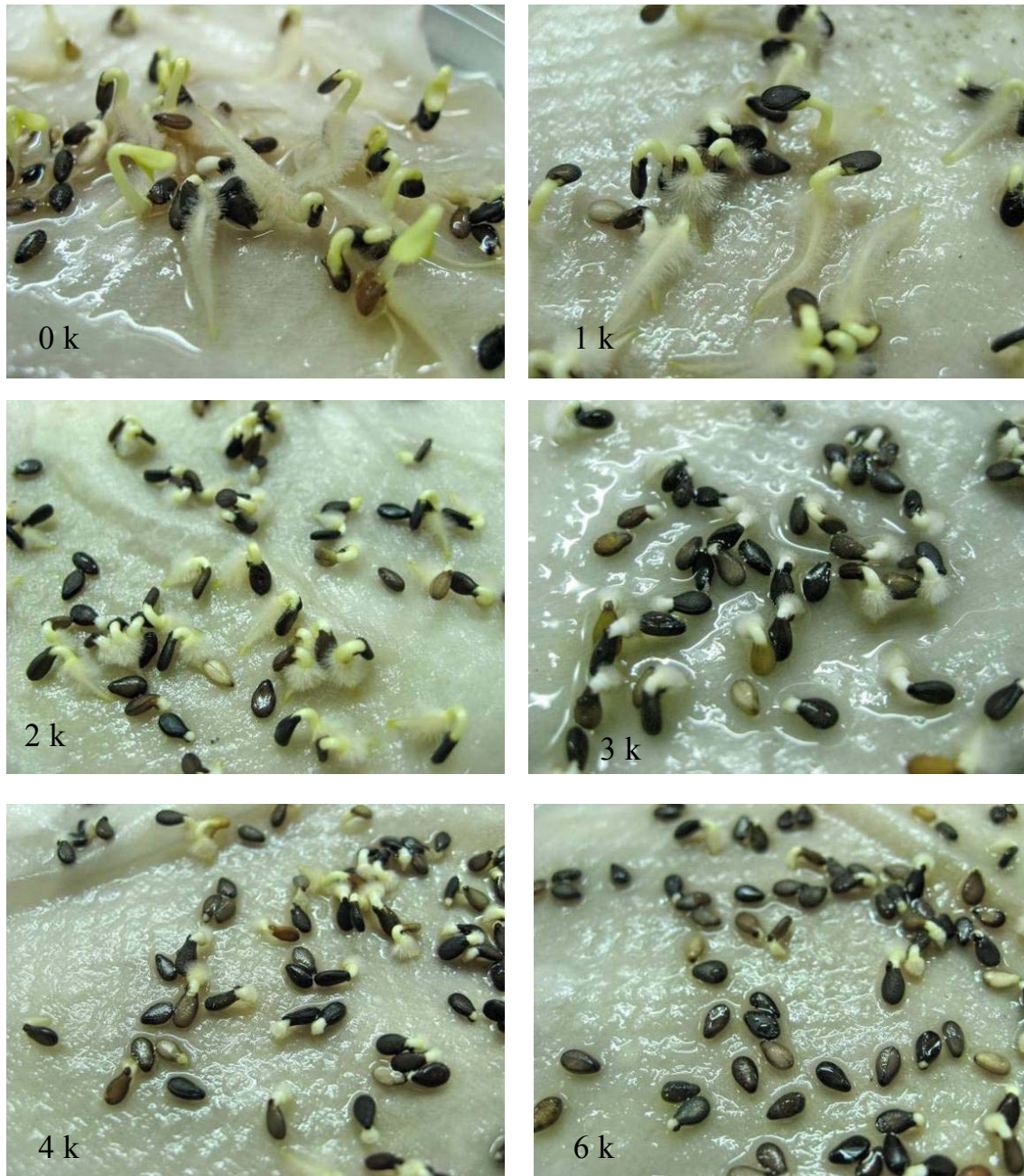
未經烘乾處理之樣品浸泡 24 小時



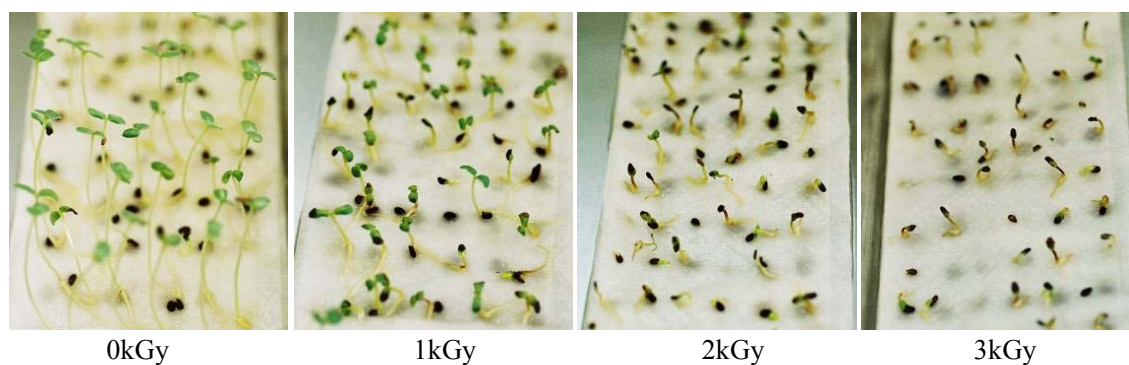
圖六 A.將火麻仁種子於100°C烘箱中烘乾1小時後，避光催芽浸泡24小時後，之少數出芽種子；B.將火麻仁種子於100°C烘箱中烘乾2小時後，避光催芽浸泡24小時後之少數出芽種子；C.未經烘乾處理之火麻仁種子，以無菌水避光浸泡24小時後之少數出芽種子。將出芽之種子於濕潤濾紙上繼續培養5~7天，其胚根皆無繼續生長分化之現象，故此出芽現象屬非生理性出芽。



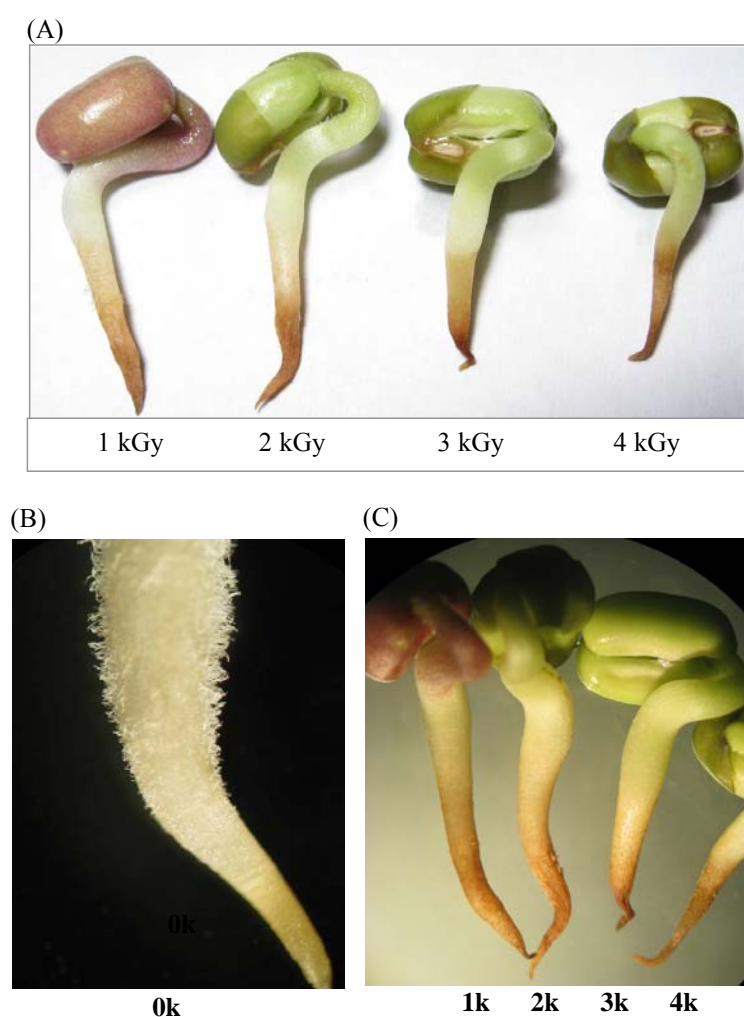
圖七 A.未經處理之芝麻種子；B.將芝麻避光催芽12小時後，可見少數種子有出芽現象，將之於烘箱中烘乾6小時後，可見芽變短，原本外露於種殼之芽縮入種殼內；C.經烘乾處理之芝麻再以無菌水避光浸泡24小時後，可見已縮入種殼內之芽再度伸長膨脹外露。將出芽之種子於濕潤濾紙上繼續培養5~7天，其胚根皆無繼續生長分化之現象，故此出芽現象屬非生理性出芽。



圖八 芝麻樣品未經照射（0 kGy）及經1、2、3、4、6 kGy照射後培養3天之種子出芽及生長狀況。胚根之伸展及根毛之發展隨照射劑量增高而變差。



圖九 芝麻樣品未經照射（0 kGy）及經1、2、3 kGy照射後培養6天之種子生長狀況。植株之高度及子葉之生長隨照射劑量增高而下降。

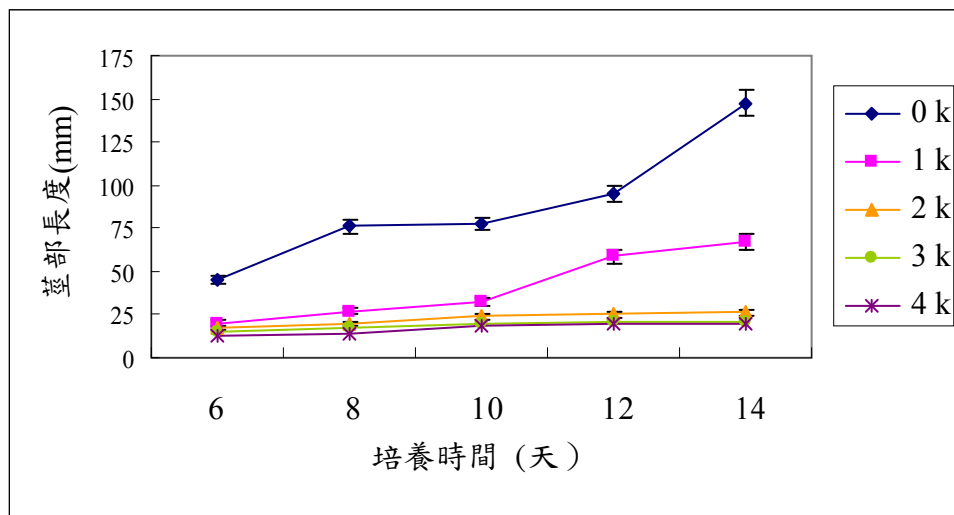


圖十 乾燥綠豆種子於發芽床上培養至第五天根部發育之狀況與照射劑量之相關性：(A)根部生長狀況隨著照射劑量增加而趨於不健全；(B)於顯微鏡下觀察未經照射之種子根部發育狀況良好；(C)於顯微鏡下觀察隨照射劑量增高，種子胚根部發育之長度下降、根毛發育不全、根點褐化。

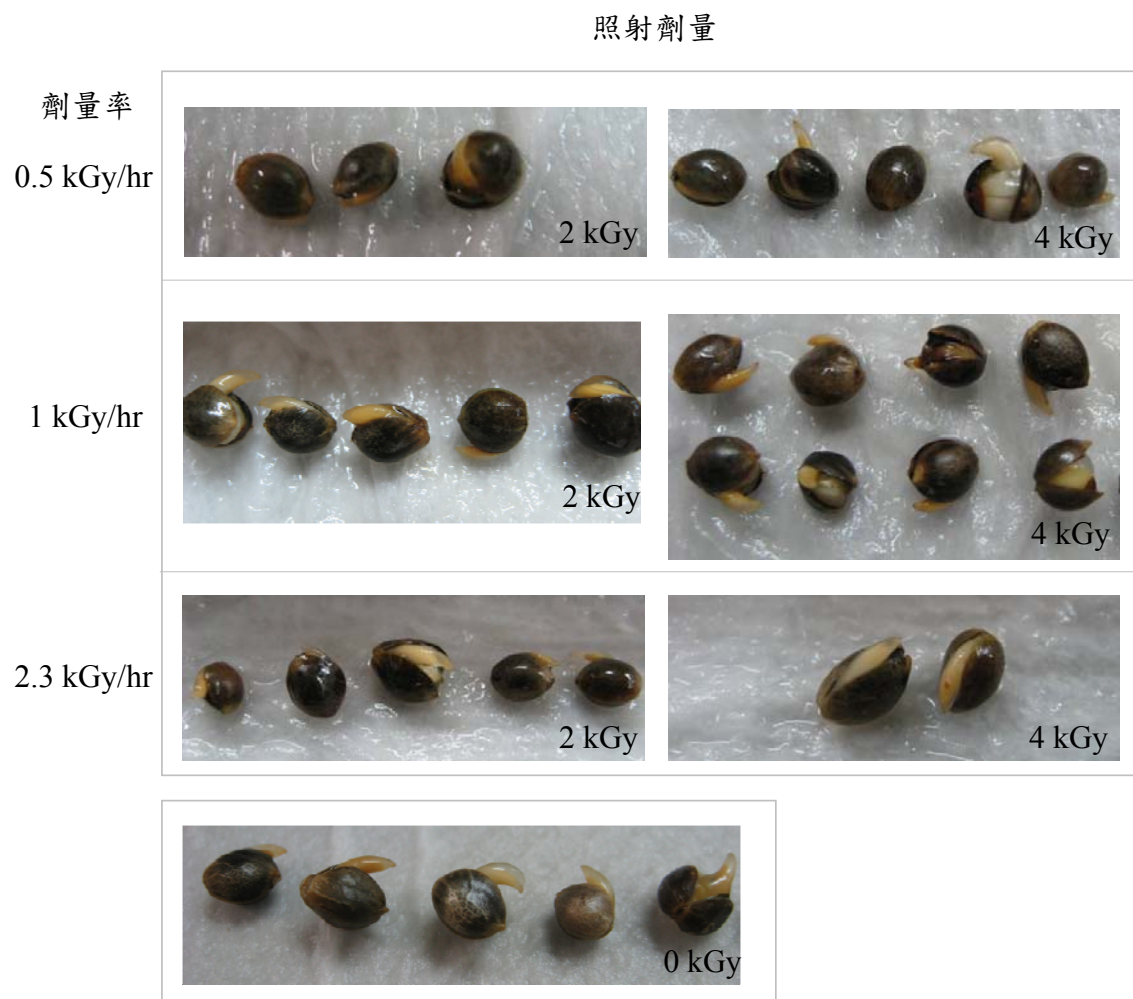
(A)



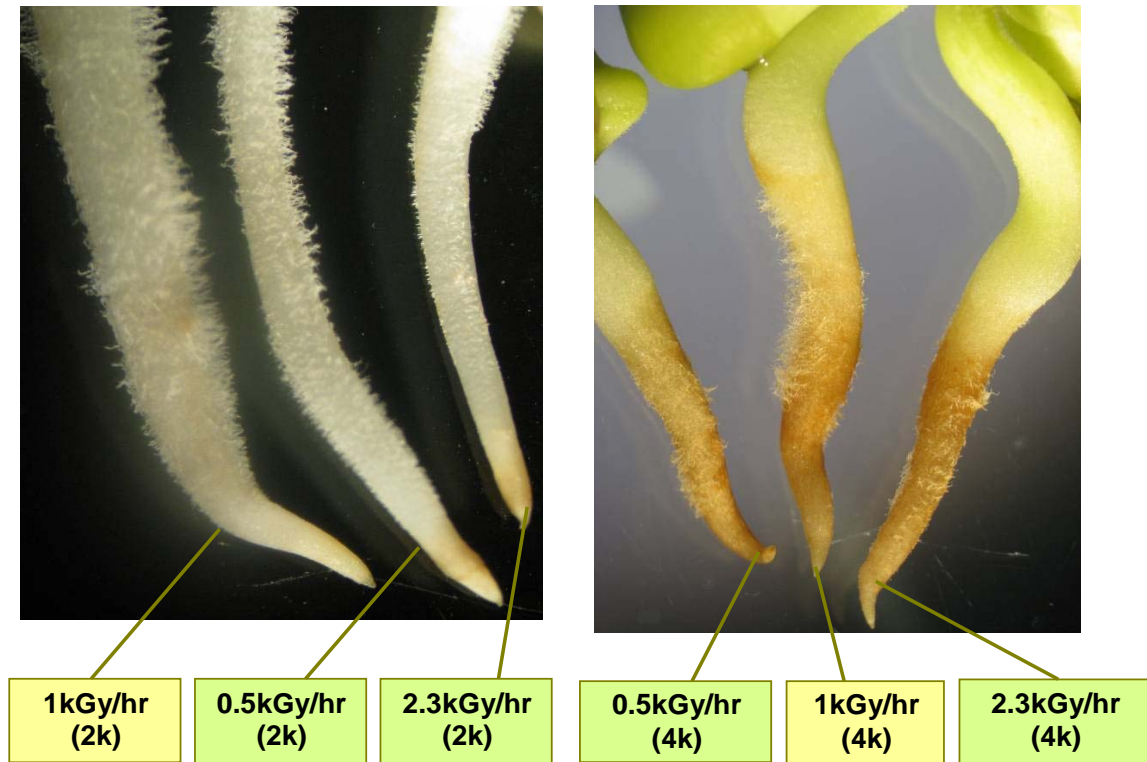
(B)



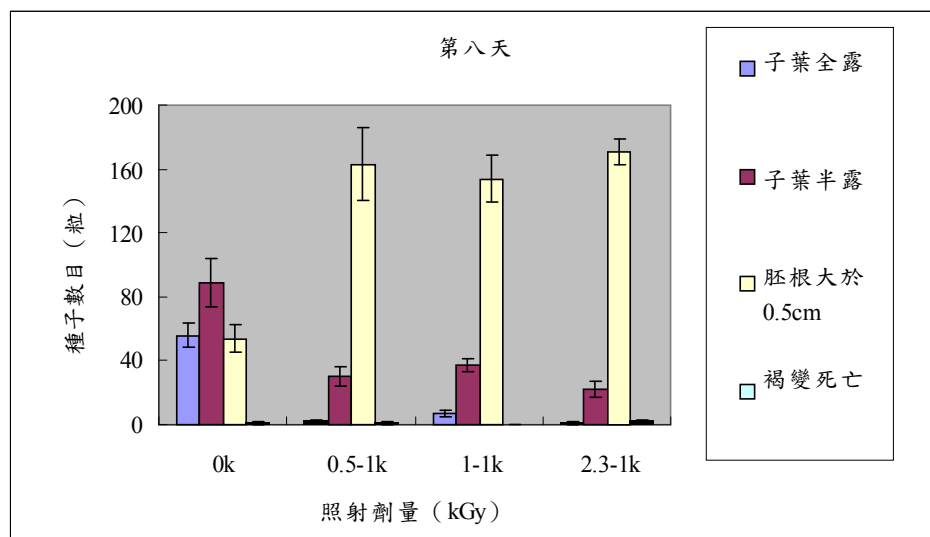
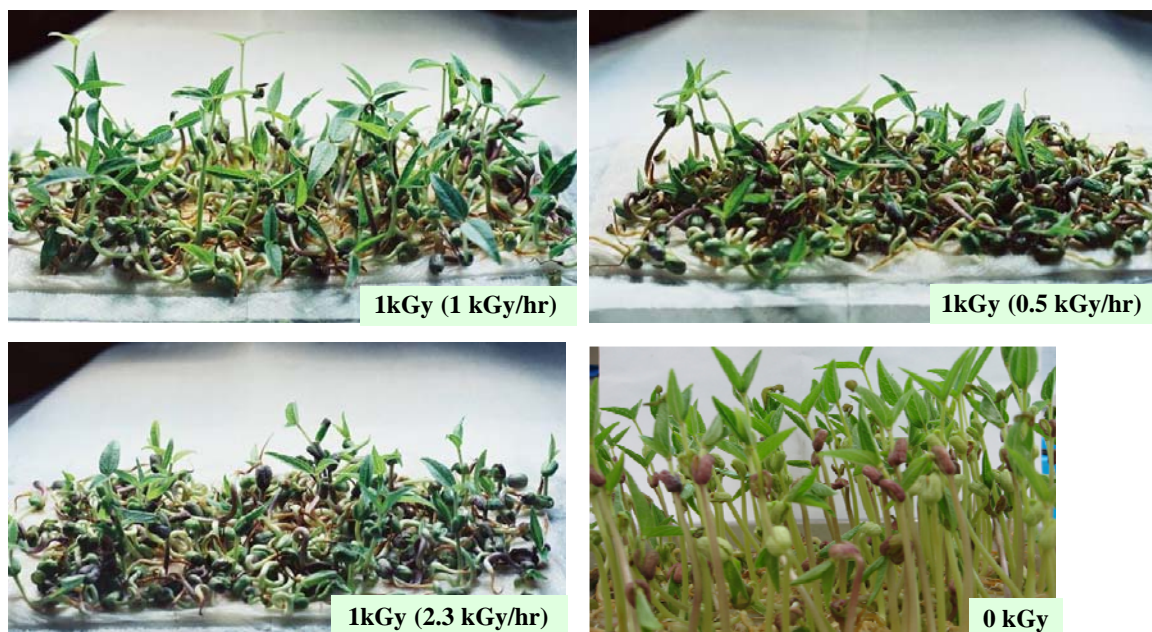
圖十一 乾燥綠豆種子於發芽床上控溫(25°C)、控光(12小時光照)條件下培養期間生長發育狀況與照射劑量之相關性：
(A)綠豆各處理於發芽床上培養至第十四天之植株外觀；(B)不同處理於培養不同天數時所量測之植株莖部平均長度(mm)。



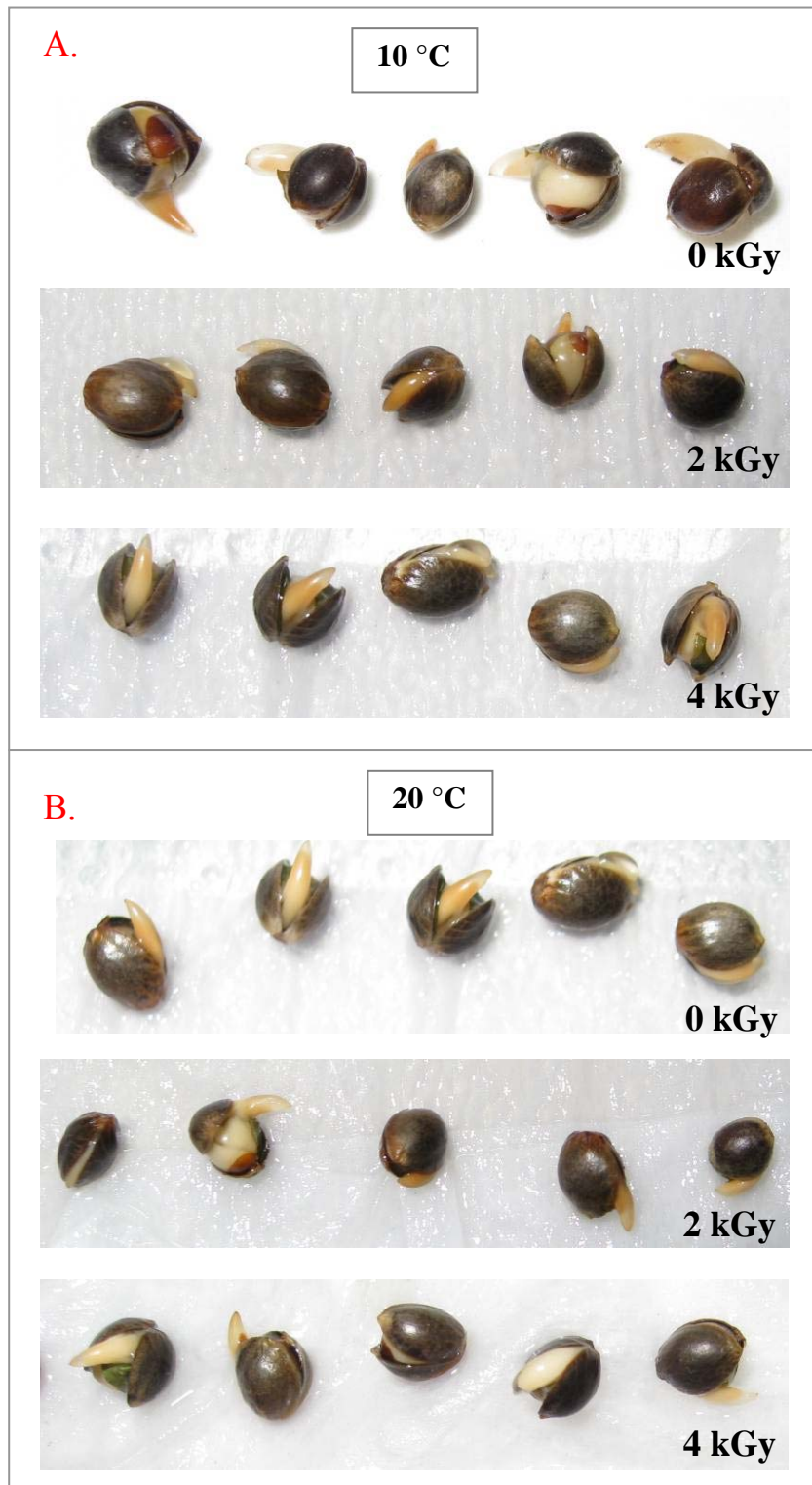
圖十二 取出芽率最高之批次D火麻仁樣品約1000粒種子，以不同劑量率相同總照射劑量之條件進行照射後，於20°C黑暗中泡水催芽48小時後觀察其出芽現象，結果皆屬不正常出芽，且此出芽率與劑量、劑量率皆無關。



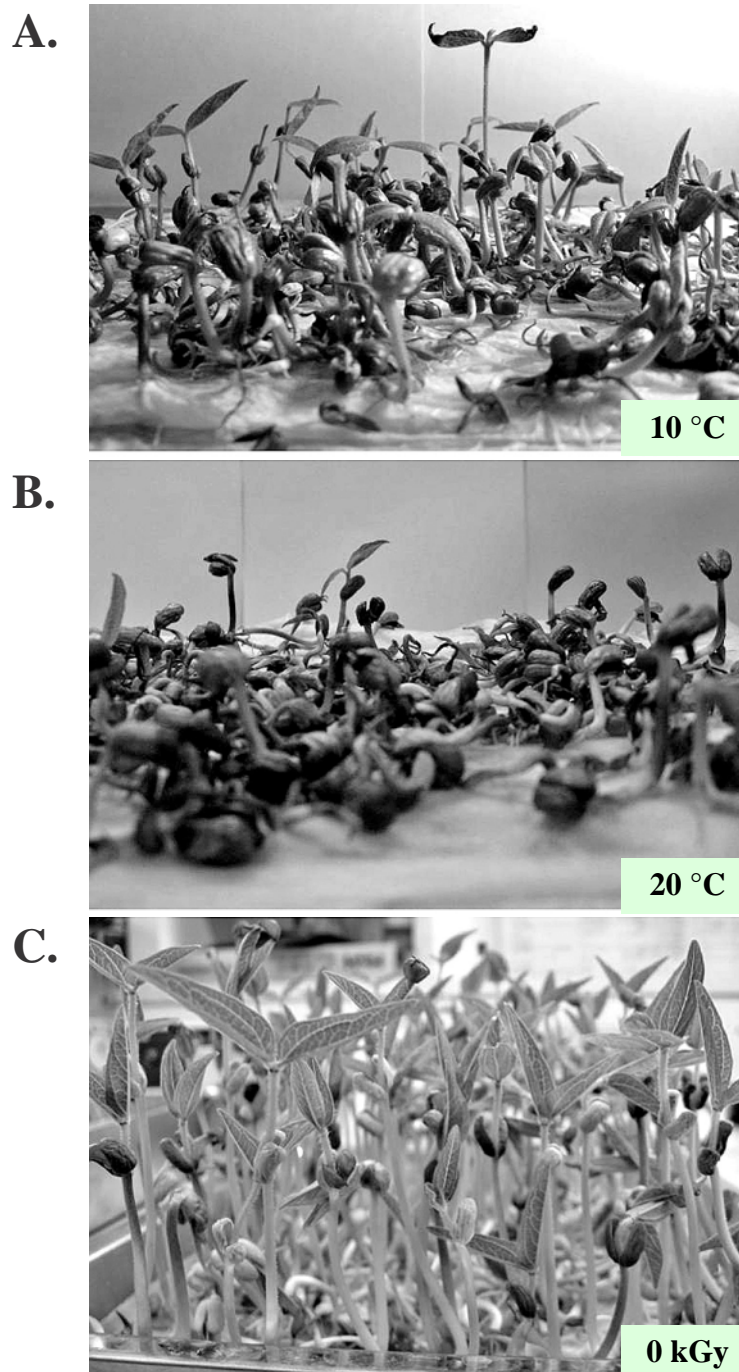
圖十三 於相同照射劑量(2、4kGy)、不同劑量率(0.5、1、2.3 kGy/hr)條件下進行輻射照射之綠豆種子，於發芽床上控溫(25°C)、控光(12小時光照)條件下培養五天後，於顯微鏡下觀察其胚根及根毛發育，均以1 kGy/hr劑量率照射者較佳。



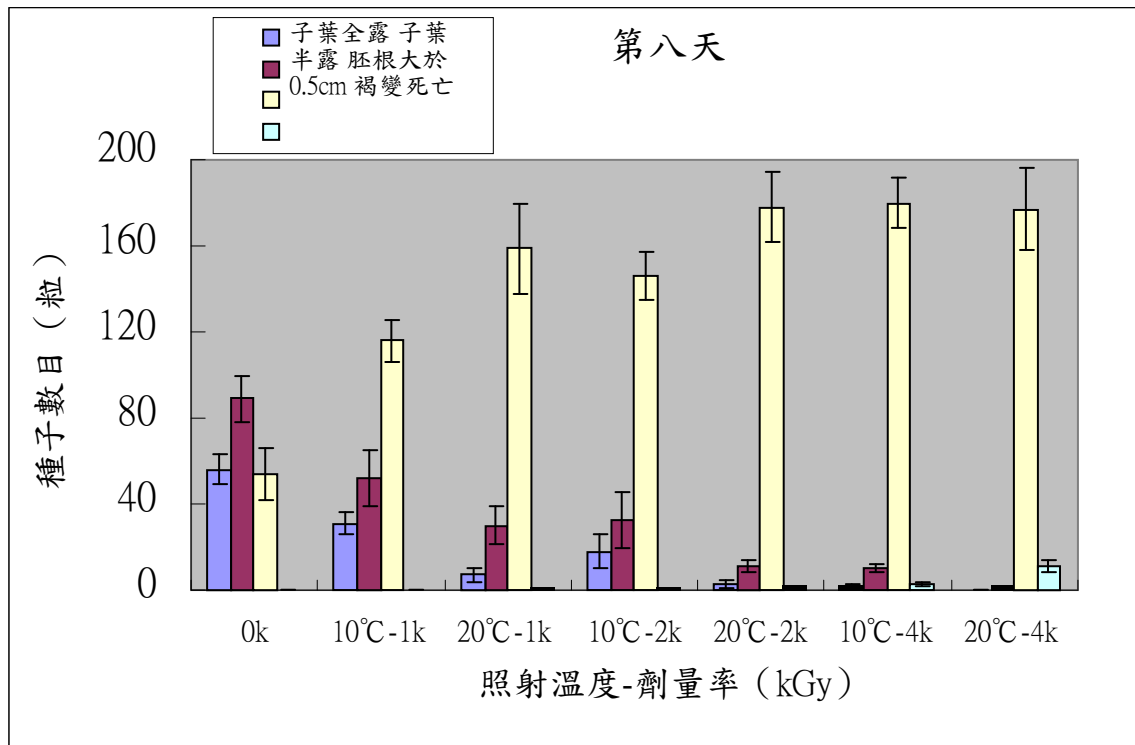
圖十四 上圖：綠豆樣品以不同照射劑量率（0.5、1、2.3 kGy/hr）照射1 kGy後，於25°C培養至第八天觀察其生長狀況。下圖：將上述各處理之不同生長狀態分別進行計數（三重複），顯示照射率不同時會影響其發芽率，以1 kGy/hr劑量率照射之樣品生長狀況稍佳。



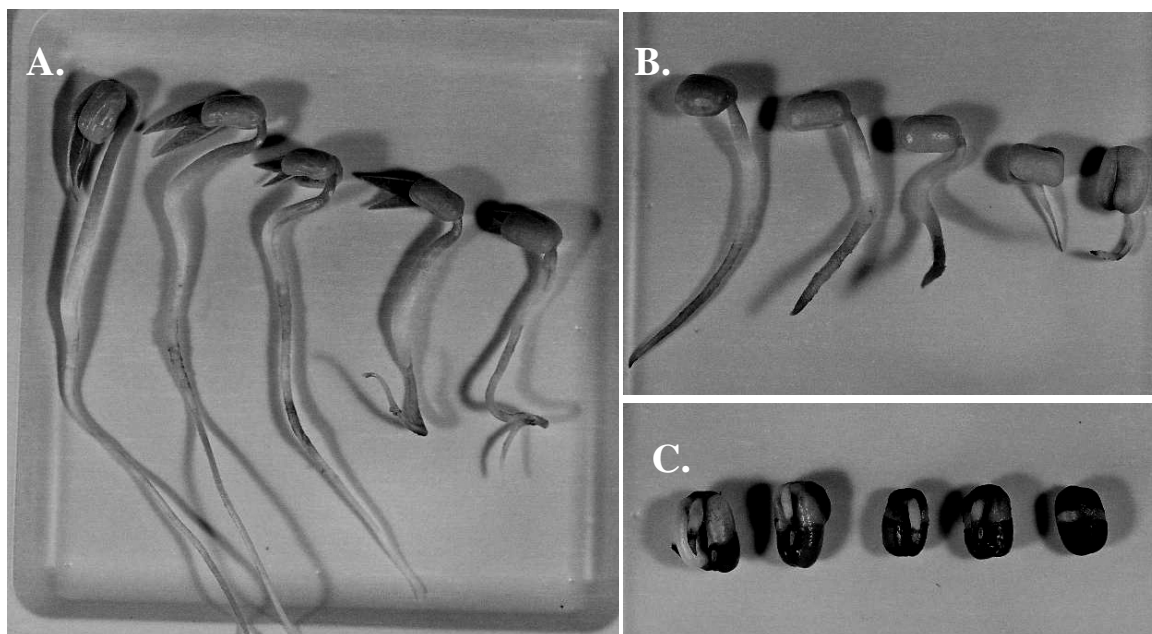
圖十五 取批次D火麻仁樣品約1000粒種子，以不同照射溫度(10°C、20°C)進行0k、2k及4k總照射劑量之條件進行照射後，於20°C黑暗中泡水催芽48小時後觀察其出芽現象，結果皆屬不正常出芽，且出芽率與照射溫度無關，且輻射照射劑量與此不正常出芽現象無相關性。



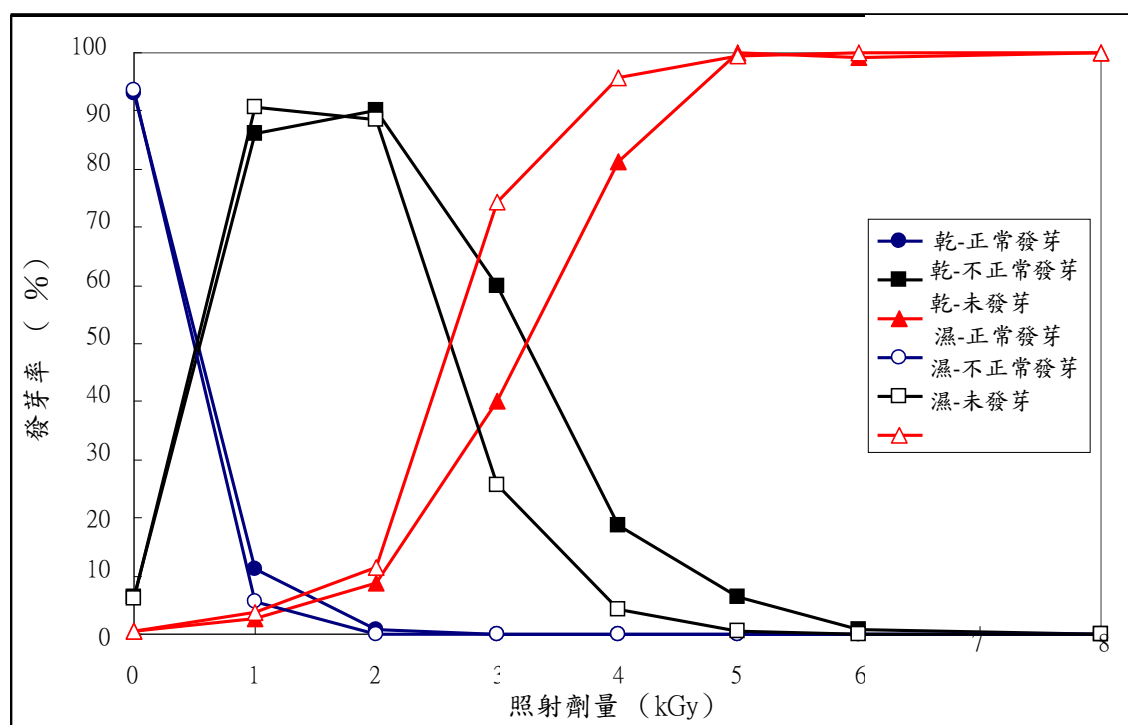
圖十六 市售乾燥綠豆樣品分別以10°C及20°C照射1kGy（劑量率為1 kGy/hr）處理後於20°C培養第至八天之生長狀況，照射溫度為10°C之綠豆樣品生長狀況較20°C培養為佳，圖C為未照射之綠豆樣品之生長狀況（控制組）。



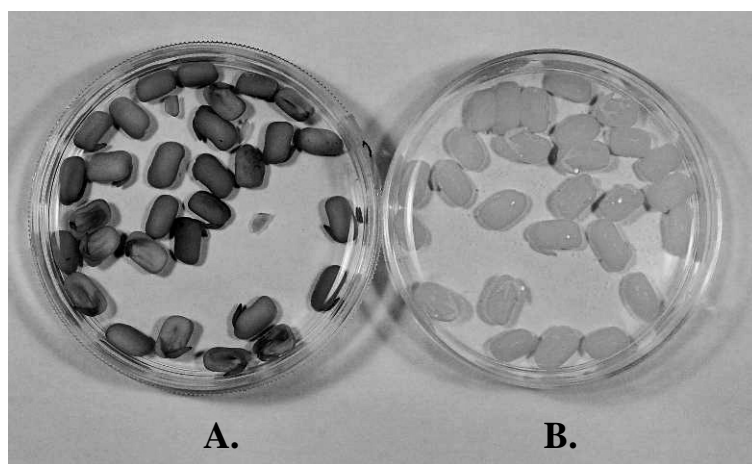
圖十七 市售乾燥綠豆樣品分別以10°C及20°C照射1kGy（劑量率為1 kGy/hr）處理後於20°C培養第至八天之生長狀況，依其不同生長狀況計數其數量（三重複）。照射溫度為10°C之綠豆樣品生長狀況較20°C培養為佳，0k為未照射之綠豆樣品之生長狀況（控制組）。



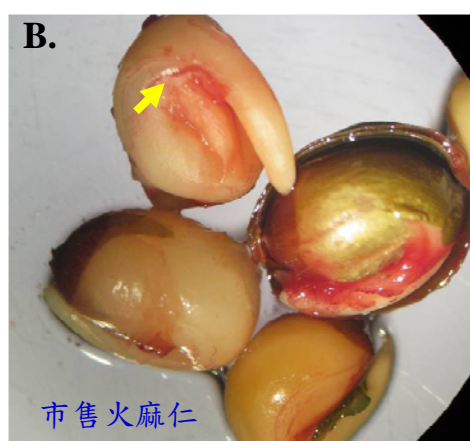
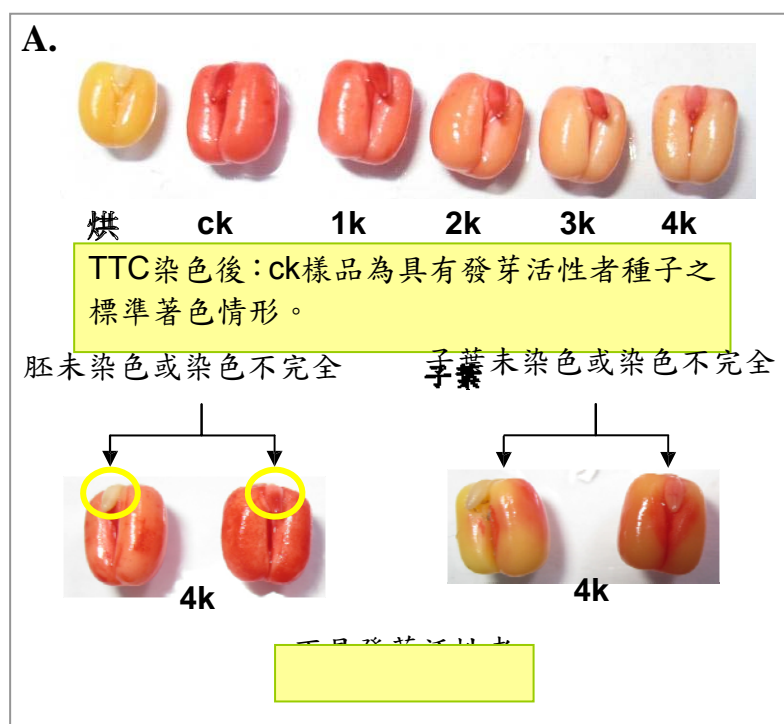
圖十八 乾燥及經泡水3小時之濕潤綠豆分別以0、1、2、3、4、5、6、8 kGy不同劑量照射處理（250粒/組），照射後立即催芽及培養，於培養後48小時計數之種子，依發芽狀況分為三類：圖A為正常發芽者，可見完整根、莖及葉的雛形；圖B為不正常發芽，因其雖有顯著發芽但不見完整根、莖及葉之雛形；圖C為不發芽者，其種子為完全不發芽或是所生長之胚芽長度小於1公分者。



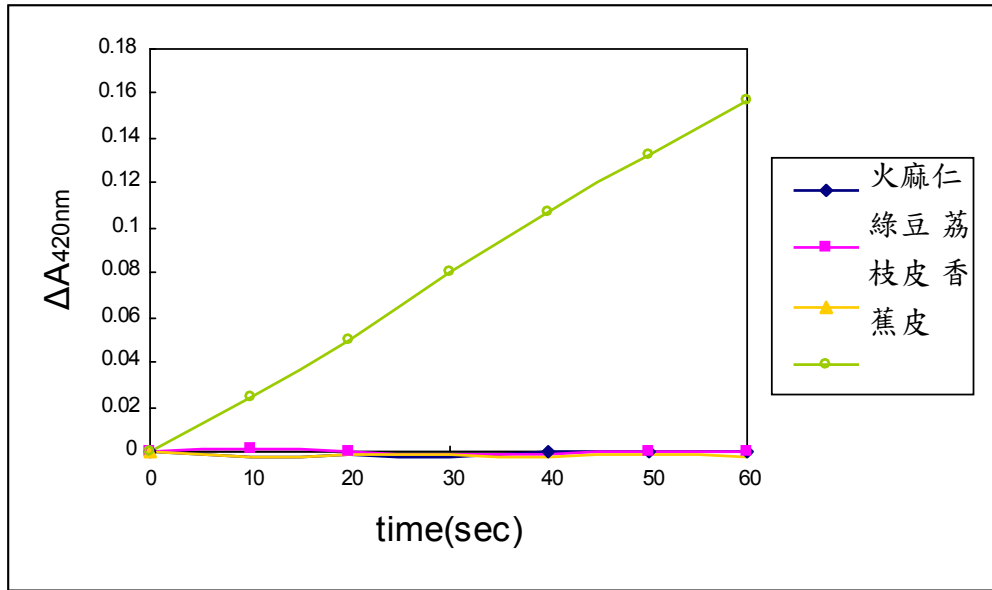
圖十九 乾燥及經泡水3小時之濕潤綠豆分別以0、1、2、3、4、5、6、8 kGy不同劑量照射處理（250粒/組），照射後立即催芽及培養，於培養後48小時後觀察並計數種子之發芽狀態。



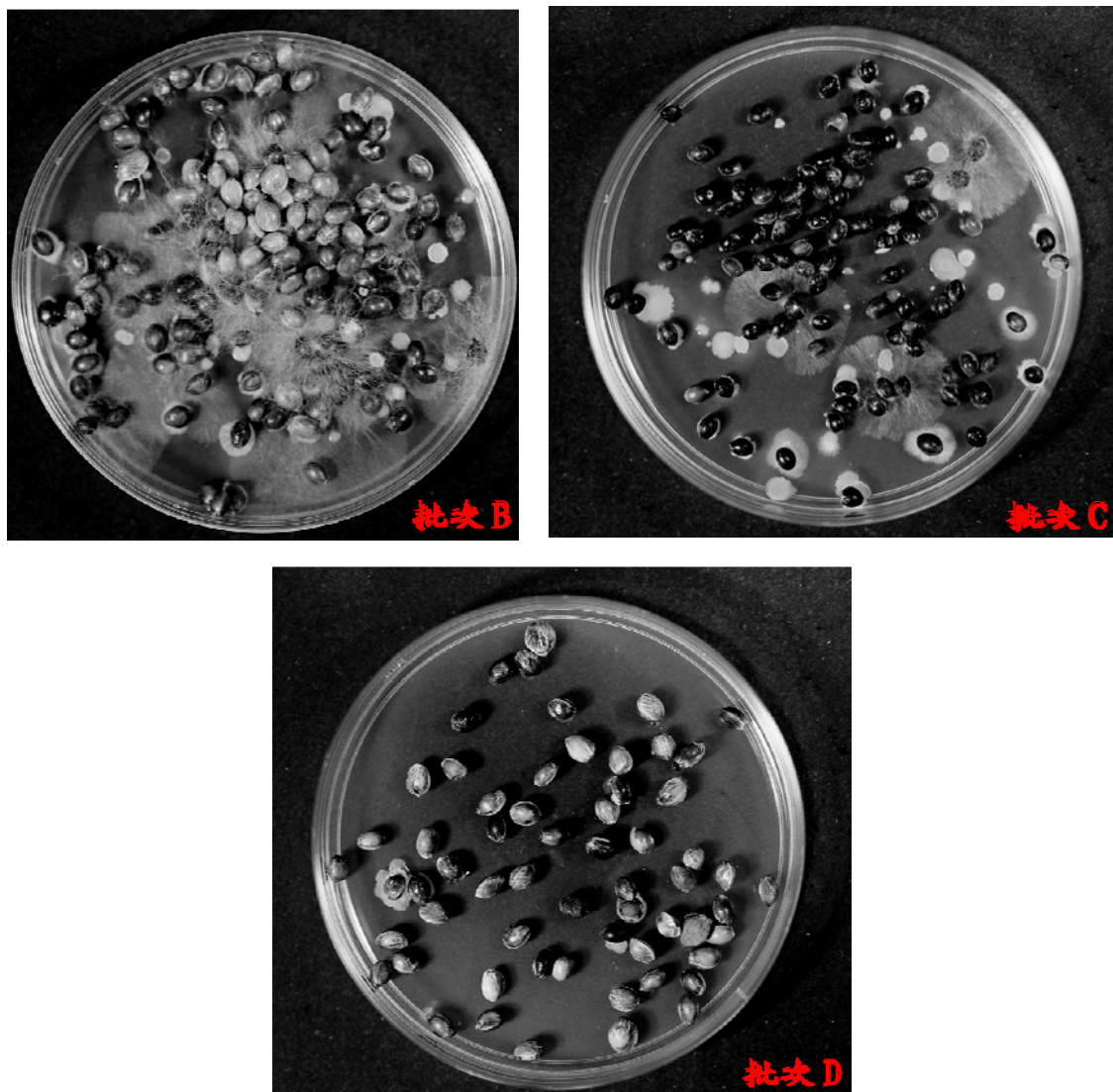
圖二十 以氯化三苯四氮唑法（TTC法）測試綠豆種子胚部之生命活力：A.未經煮沸處理之綠豆樣品在其胚部及子葉皆染為紅色，表示此綠豆樣品為具有生命活力之種子。B.經過煮沸處理的綠豆樣品無法被染色，表示其喪失了種子胚的生命活力。



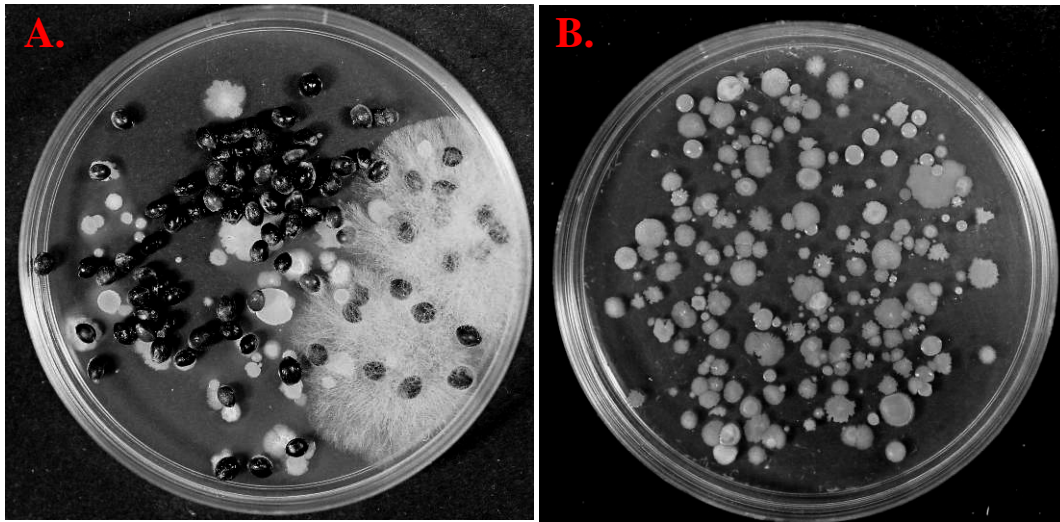
圖二十一 以氯化三苯四氮唑法（TTC法）測試綠豆及市售火麻仁種子胚部之生命活力：(A)具有生命活力之綠豆種子(ck)之胚部及子葉部份可被均勻的染為紅色，而不具發芽活性者則有顏色較淡或著色位置不均勻之現象。(B)經過泡水48小時催芽後移至發芽床中培養24小時之火麻仁樣本，挑選已出芽及未出芽之火麻仁樣本並撥除其外殼，進行TTC染色，結果僅於胚部有部分呈現紅色，表示已出芽及未出芽火麻仁種子均不具有發芽活性。



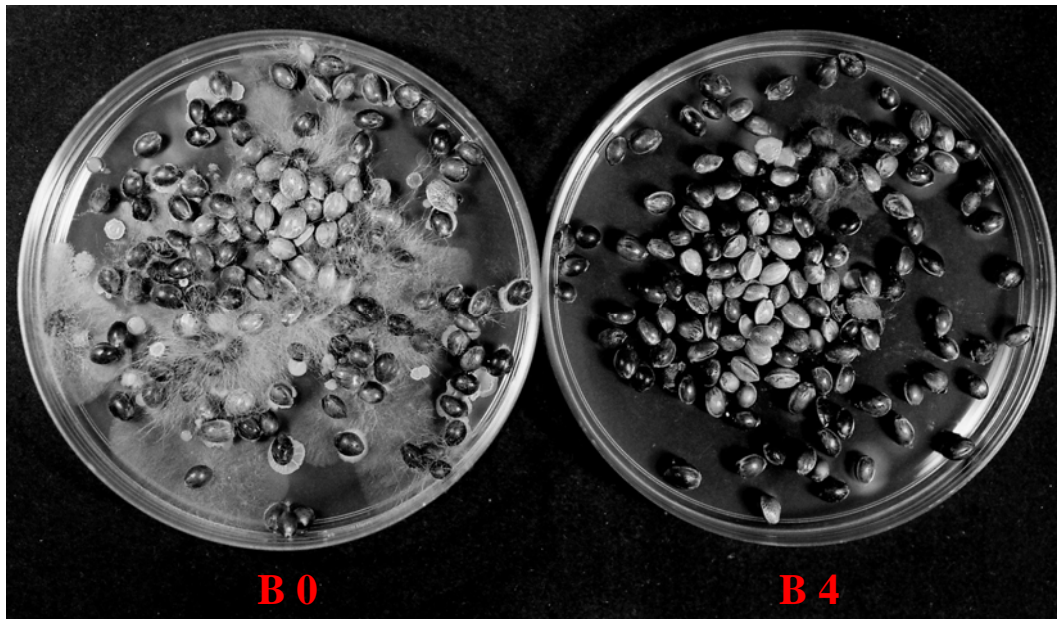
圖二十二 以多酚氧化酶之活性作為測試火麻仁種子發芽活性之指標，實驗結果顯示市售炮製火麻仁、乾燥綠豆種子及荔枝果皮中無法測得多酚氧化酶之活性，而作為對照組之香蕉果皮則可測得酵素。



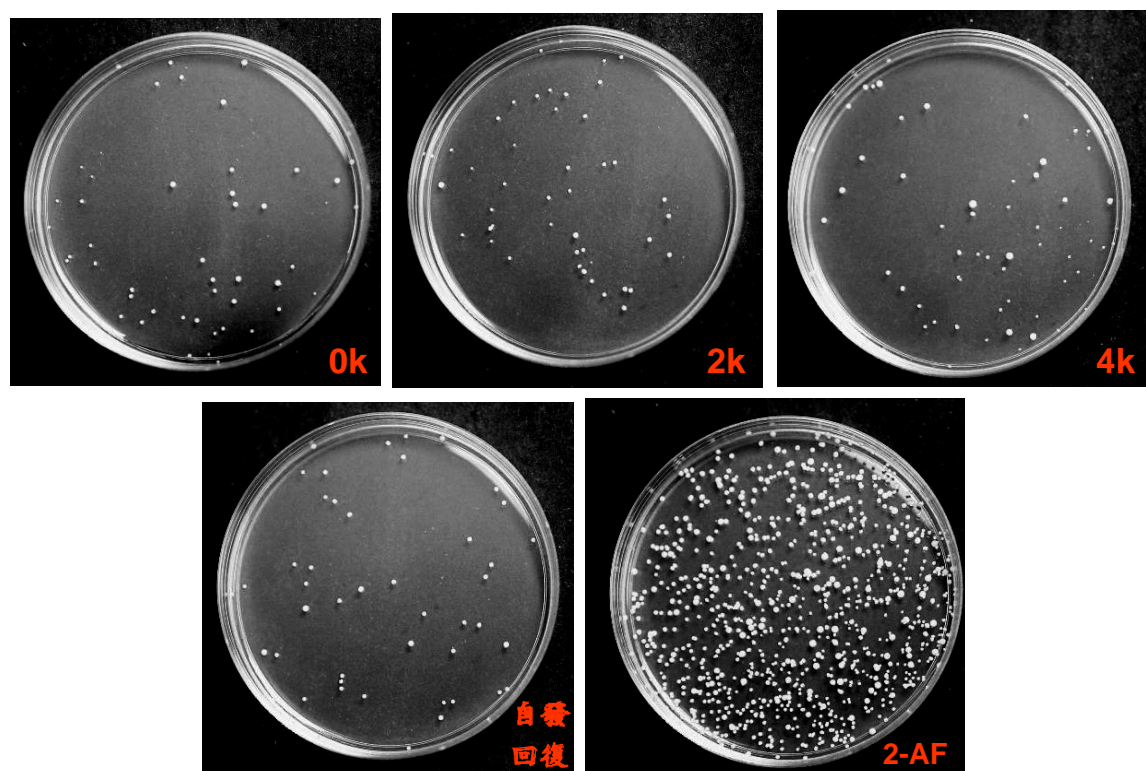
圖二十三 未經照射之不同批次火麻仁樣品直接置於PCA平面培養基上培養2天所呈現之微生物相，所測得菌數種類及含量皆不盡相同，其中以批次D所觀測得菌數為最少。



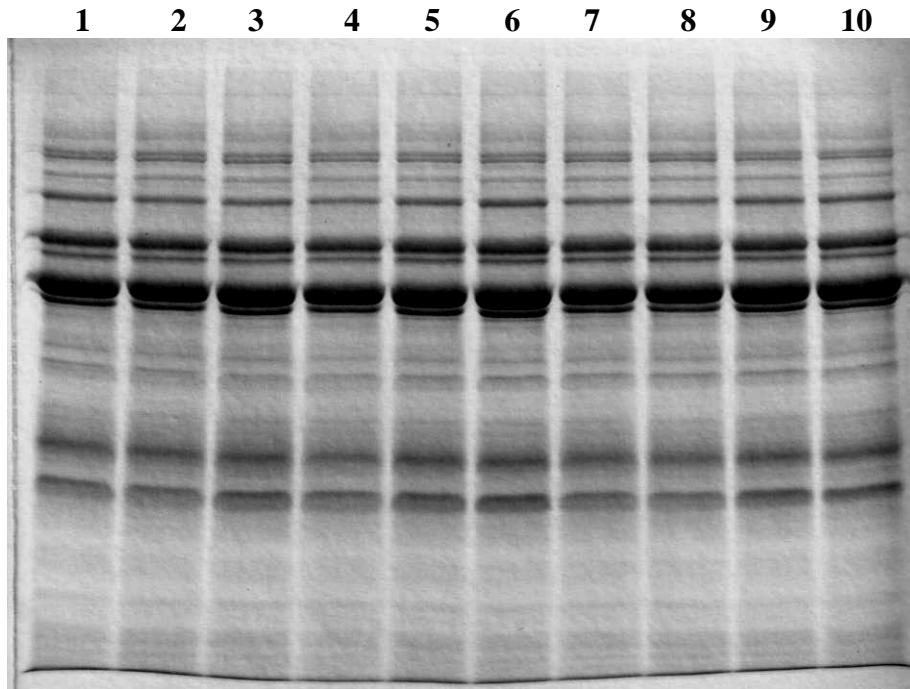
圖二十四 A.未經照射之火麻仁樣品C直接置於PCA平面培養基上及
B.取懸浮液稀釋200倍後塗佈於PCA培養基上之微生物相（2
天培養）。



圖二十五 火麻仁編號B樣品未經照射（左）與經照射（右）直接置於
PCA平面培養基上培養2天。未經照射之樣品（左）布滿微
菌與細菌，經4 kGy照射後菌數明顯減少。



圖二十六 以未經照射處理及經照射處理(2k、4k)之火麻仁樣品萃液處理後其*S. typhimurium* TA100菌株之 His^+ revertants菌落數目均與自發性回復突變之菌數相近，而作為對照組之商業化致突變劑2-aminifluorene(2-AF)則可明顯地誘導菌株回復突變。



圖二十七 乾燥綠豆種子以不同劑量率(0.5、1、2.3 kGy/hr)照射1、2、4 kGy處理後之蛋白質圖譜分析(SDS-PAGE)

Lane 1 : CK ;

Lane 2 : DR0.5-1k ; Lane 3 : DR1-1k ; Lane 4 : DR2.3-1k ;

Lane 5 : DR0.5-2k ; Lane 6 : DR1-2k ; Lane 7 : DR2.3-2k ;

Lane 8 : DR0.5-4k ; Lane 9 : DR1-4k ; Lane 10 : DR2.3-4k

表一、各批次之市售乾燥火麻仁經輻射照射後培養第五天出芽之種子及胚根長度

| 樣品編號及採樣處 | 照射劑量(kGy) | | | | | | | | | | | |
|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 k | | 2 k | | 4 k | | 6 k | | 8 k | | 10 k | |
| | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) | 種子長 (mm) | 胚根長 (mm) |
| A(台中) | 5.49±0.2* | 4.37±0.52 | 4.99±0.41 | 3.63±0.61 | 4.93±0.29 | 3.68±0.78 | 4.92±0.33 | 3.58±0.37 | 4.97±0.44 | 3.55±0.38 | 5.62±0.06 | 4.51±0.64 |
| B(台南) | 5.45±0.45 | 3.68±0.59 | 5.59±0.19 | 3.87±0.93 | 5.24±0.41 | 3.59±0.49 | 5.17±0.47 | 3.61±0.49 | 5.29±0.29 | 3.64±0.72 | 4.98±0.47 | 3.85±0.72 |
| C(高雄) | 4.81±0.36 | 3.41±0.47 | 5.25±0.21 | 4.53±0.88 | 5.43±0.37 | 3.32±0.48 | 4.94±0.19 | 3.37±0.54 | 4.98±0.60 | 3.52±0.97 | 5.48±0.36 | 3.73±0.44 |
| D(高雄) | 4.58±0.48 | 3.39±0.45 | 4.53±0.39 | 3.31±0.56 | 4.35±0.39 | 3.22±0.34 | 4.44±0.56 | 2.82±0.55 | 4.62±0.49 | 3.21±0.35 | 4.64±0.59 | 3.28±0.84 |

*為量測整批樣品中所有出芽種子之種子長度及胚根長度的平均值±其標準偏差值。所有樣品之胚根長度均短於火麻仁種子長度，依台大種子研究室之資料，本試驗中之出芽可定義為不發芽或不正常出芽。

表二、不同批次之市售乾燥火麻仁經輻射照射後立即種植培養第五天之出芽率(%)

| 樣品 編號 | 照射劑量(kGy) | | | | | |
|----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 k | 2 k | 4 k | 6 k | 8 k | 10 k |
| A(台中) | 0.41±0.03* | 0.61±0.04 | 0.41±0.05 | 0.1±0.02 | 0.41±0.05 | 0.2±0.04 |
| B(台南) | 0.64±0.05 | 0.45±0.02 | 0.55±0.06 | 0.73±0.05 | 0.64±0.04 | 0.45±0.03 |
| C(高雄) | 0.73±0.04 | 0.19±0.02 | 0.45±0.05 | 0.27±0.06 | 0.27±0.05 | 0.19±0.05 |
| D(高雄) | 1.15±0.05 | 0.58±0.06 | 0.42±0.08 | 1.11±0.06 | 0.74±0.03 | 0.21±0.04 |

註：出芽率(%)指所取測試樣品中，所有已出芽種子數所佔之百分比，樣品之出芽以3~4 mm胚根長度為指標。

*為每一批樣品中各取三重複測試，計算其出芽率平均值±標準偏差。

表三、不同批次之市售乾燥火麻仁經輻射照射後，於室溫下貯存三個月後種植培養第五天之出芽率(%)

| 樣品 編號 | 照射劑量(kGy) | | | | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 k | 2 k | 4 k | 6 k | 8 k | 10 k |
| A(台中) | 0.72±0.06 | 0.41±0.03 | 0.41±0.02 | 0.11±0.02 | 0.2±0.01 | 0.2±0.02 |
| B(台南) | 0.64±0.05 | 0.55±0.04 | 0.73±0.04 | 0.45±0.03 | 0.27±0.03 | 0.36±0.05 |
| C(高雄) | 0.45±0.05 | 0.64±0.04 | 0.45±0.05 | 0.27±0.02 | 0.36±0.04 | 0.19±0.03 |
| D(高雄) | 0.95±0.06 | 0.68±0.05 | 0.89±0.06 | 0.58±0.04 | 0.74±0.04 | 0.42±0.04 |

註：出芽率(%)指所取測試樣品中，所有已出芽種子數所佔之百分比，樣品之出芽以3~4 mm胚根長度為指標。

*為每一批樣品中各取三重複測試，計算其出芽率平均值±標準偏差。

表四、三個批次火麻仁樣品經不同加馬劑量照射後樣品中微生物之殘存率

| 樣品編號 ^a | 微生物種類 ^b | 照射劑量 | | | | |
|-------------------|--------------------|-------------------|-------|-------|-------|----------------|
| | | 0 kGy | 4 kGy | 6 kGy | 8 kGy | 10 kGy |
| B | B ^b | 2760 ^c | <50 | 0 | 0 | 0 |
| | M | 157 | <40 | 0 | 0 | - ^d |
| | E/ Ec/ Pa | 0 | 0 | 0 | - | - |
| C | B | 441502 | <237 | 0 | 0 | 0 |
| | M | 350 | 240 | <79 | <40 | - |
| | E/ Ec/ Pa | 0 | 0 | 0 | - | - |
| D | B | 790 | 0 | 0 | 0 | - |
| | M | 100 | <79 | <40 | 0 | - |
| | E/ Ec/ Pa | 0 | 0 | - | - | - |

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品^b B：總好氧性微生物、M：黴菌、E：腸內菌、Ec：大腸桿菌、Pa：綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)^c 三重複測試之平均值

表五、不同批次之市售乾燥火麻仁輻射照射前、後之外觀顏色變化差異

| 批次 | | 照射劑量(kGy) | | |
|----|---|------------|------------|------------|
| | | 0k | 2k | 4k |
| A | L | 46.33±1.70 | 47.79±1.86 | 45.27±1.49 |
| | a | 2.33±0.81 | 2.91±0.98 | 1.95±0.50 |
| | b | 18.72±0.27 | 18.76±0.67 | 16.53±0.58 |
| B | L | 43.91±1.6 | 44.13±1.78 | 43.23±0.87 |
| | a | 1.50±0.54 | 1.95±1.00 | 1.69±0.57 |
| | b | 15.99±0.84 | 17.16±1.25 | 15.91±0.55 |
| C | L | 45.57±1.33 | 45.63±1.19 | 43.66±0.89 |
| | a | 2.74±0.74 | 2.42±1.24 | 2.16±0.80 |
| | b | 18.35±1.83 | 17.68±0.56 | 16.11±1.17 |
| D | L | 40.09±1.38 | 38.34±2.58 | 40.03±2.34 |
| | a | 2.04±0.40 | 2.04±1.12 | 1.46±0.52 |
| | b | 15.63±0.80 | 15.38±1.01 | 15.33±0.98 |

A：台中 B：台南 C：高雄 D：高雄

表六、市售火麻仁於輻射照射後之脂肪酸含量與照射後經貯存三個月後之脂肪酸含量

| 照射劑量(kGy) | 0 | | 2 | | 4 | |
|---------------------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|
| 脂肪酸 | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 |
| 己酸(caproic acid) | 0.07 | - | 0.07 | - | 0.08 | - |
| 辛酸(caprylic acid) | 0.04 | - | 0.04 | - | 0.03 | - |
| 肉豆蔻酸(myristic acid) | 0.06 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.06 | 0.06 |
| 十五酸(pentadecanoic acid) | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 棕櫚酸(palmitic acid) | 7.63 | 7.89 | 7.64 | 7.9 | 7.72 | 7.85 |
| 棕櫚油酸(palmitoleic acid) | 0.12 | 0.12 | 0.13 | 0.12 | 0.12 | 0.12 |
| 十七酸(margaric acid) | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.07 |
| 硬脂酸(stearic acid) | 2.97 | 3.02 | 2.98 | 3.04 | 2.99 | 3.03 |
| 油酸(oleic acid) | 10.81 | 10.64 | 10.78 | 10.82 | 10.83 | 10.69 |
| 亞麻油酸(linoleic acid) | 54.06 | 53.86 | 53.97 | 53.95 | 53.88 | 53.9 |
| α-次亞麻油酸(α-linolenic acid) | 20.86 | 20.94 | 20.93 | 20.7 | 20.87 | 20.89 |
| γ-次亞麻油酸(γ-linolenic acid) | 0.48 | 1 | 0.96 | 1 | 0.97 | 1.02 |
| 十八碳四烯酸(octadecatetraenoic acid) | 0.8 | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.47 |
| 鱈油酸(gadoleic acid) | 0.42 | 0.81 | 0.81 | 0.8 | 0.82 | 0.81 |
| 二十碳二烯酸(eicosadienoic acid) | 0.09 | 0.42 | 0.42 | 0.41 | 0.43 | 0.42 |
| 二十二酸(behenic acid) | 0.31 | 0.1 | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.09 |
| 芥子酸(erucic acid) | 0.03 | 0.34 | 0.32 | 0.31 | 0.32 | 0.33 |
| 二十三酸(tricosanoic acid) | 0.04 | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 二十四酸(lignoceric acid) | 0.14 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| | | 0.15 | 0.15 | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| 單元不飽和脂肪酸(%) | 11.38 | 11.21 | 11.37 | 11.38 | 11.41 | 11.26 |
| 多元不飽和脂肪酸(%) | 76.45 | 76.38 | 76.43 | 76.22 | 76.29 | 76.37 |
| 飽和脂肪酸(%) | 12.17 | 12.41 | 12.21 | 12.4 | 12.3 | 12.37 |
| ω-3脂肪酸(%) | 21.34 | 21.42 | 21.41 | 21.18 | 21.35 | 21.36 |

表七、市售火麻仁於輻射照射後及照射後經貯存三個月後之酸價、過氧化價變化

| 照射劑量(kGy) | 0 | | 2 | | 4 | |
|--------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|
| | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 | 照射後 未貯存 | 照射後 貯存三 個月 |
| 酸價(mg KOH/g) | 2.59 | 2.61 | 2.65 | 3.07 | 2.27 | 2.76 |
| 過氧化價(meq/kg) | 17.37 | 15.71 | 15.33 | 16.57 | 15.52 | 16.11 |