

編號：CCMP94-RD-010

# 加馬輻射照射對中藥材滅菌 及成份影響評估

周鳳英

國立清華大學 原科中心 同位素組

## 摘要

本研究目的為探討中藥材加馬線照射滅菌之最適條件及評估輻射照射對中藥材成份之影響。中藥材因基原、加工、保存等方式不同，微生物含量及種類有極大差異。目前國內中藥材無特定包裝規範，多以無包裝的方式貯存與流通，在台灣高溫、多濕的環境下，易因其中微生物生長腐蝕而耗損藥材成份、抑低療效，甚或產生不良物質，尤其生服之藥材將更直接影響使用者之衛生安全。本研究結果將提供中醫藥委員會研訂中藥材品質管制之標準，及供業界依循之輻射滅菌作業程序。

本計畫選擇神麃、連翹、酸棗仁、鬱金、霍山石斛、蒼朮、冬蟲夏草及黃精 8 種常用中藥材進行輻射滅菌研究。尋找最適輻射滅菌劑量，進行照射後特定貯存期之微生物含量測定，對接受最適滅菌劑量處理之中藥材樣品進行照射前、後組成份分析。以了解各藥材所需之輻射滅菌劑量，及評估中藥材經照射後之成份變化，確認最佳照射劑量等條件，輻射照射於清華大學原科中心鈷六十照射場中進行。照射劑量範圍為 0~20 kGy。

結果顯示，本計畫測試之八種中藥材中，於同一種中藥材之不同批次取樣之微生物含量有明顯差異，神麃其單位重量之最高微生物含量可達  $10^7$  CFU/g，以 10 kGy 照射可達完全無菌，冬蟲夏草單位重量菌數為  $10^4 \sim 10^6$  CFU/g，經 14 kGy 可完全滅菌。酸棗仁單位重量菌數為  $10^2 \sim 10^6$  CFU/g、蒼朮單位重量菌數為  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g，皆於 12 kGy 照射可以完全滅菌。本研究收集之市售石斛有兩種，捲曲狀之霍山石斛需 12 kGy 始可完全滅菌。其餘四

種中藥材，以 10kGy 以內照射劑量即可完全滅菌。金釵石斛、連翹、鬱金以 8 kGy、黃精以 6 kGy 照射即可達完全滅菌。實驗中同時測定中藥材中的腸內菌含量，部份樣品測出腸內菌含量為  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g，以 4 kGy 照射即可將腸內菌殺滅。

中藥材包裝後照射處理，經 3 個月之室溫貯藏後將樣品直接置於平面培養基上培養觀察，結果顯示經 1~7 天後，培養基及中藥材上均無微生物生長。經照射之藥材其外觀及品質無明顯變化，照射前後之指標成分含量或組成份之 HPLC 圖譜亦無明顯差異。本研究成果可提供企業界進行中藥材加馬線照射方法、行政單位制訂中藥材加馬線滅菌之法規及進口中藥材規格管制之研訂參考，建立消費者之認同，以開發輻射滅菌中藥材市場，提高中藥材之經濟效益。

關鍵詞：中藥材、加馬線滅菌、微生物

NUMBER:CCMP94-RD-010

# Effects of Gamma Irradiation on Microbial Decontamination and Compositions of Chinese Medicine Herbs

F. I. Chou

Nuclear Science and Technology Development Center,  
National Tsing Hua University

## ABSTRACT

The goal of this research is to determine the optimal conditions for microbial decontamination of Chinese medicine herbs (CMHs) by using gamma irradiation. Because CMHs are harvested from different locations, usually CMHs have a wide diversity in their microbiological quality. Moreover, the microbial growth can decrease the CMHs quality by decomposing their nutrients or even by producing microbial toxins in CMHs. The growth of microbes can happen either in the harvested places or happen by the contamination during transportation or storage. This quality reduction can decrease the production of therapeutical preparations of CMHs. In Taiwan, CMHs easily become contaminated and decomposed since the high humidity and high temperature are the favorable conditions for microorganisms to grow. Therefore, consumers have been raising their concerns for safety of CMHs. An effective method to eliminate the contamination of microorganisms from CMHs is a crucial requirement.

In this project, eight species of CMHs including, *Massa Medicata Fermentata*, *Forsythiae Fructus*, *Cordyceps*, *Zizyphi Spinosi Semen*, *Curcumae Radix*, *Atractylodis Rhizoma*, *Dendrobii Canlis*, *Rhizoma Polygonati*, were taken for studying the effects of gamma irradiation on microbial contamination. Gamma irradiation was

performed in a 30,000 Ci cobalt-60 hot cell at the Nuclear Science and Technology Development Center, National Tsing Hua University. Specimens were exposed to various doses of gamma irradiation (0 to 20 kGy) to evaluate the decontamination efficiency, and the changes in chemical composition.

The results showed an enormous difference among the samples in the concentration and species of microorganisms, and different batches of the same materials also presented accentuated differences in the content of microorganisms. The microbial content of Massa Medicata Fermentata was about  $10^7$  CFU/g and its decontamination dose was 10 kGy. The microbial content of Cordyceps was about  $10^4$  to  $10^6$  CFU/g and its decontamination dose was 14 kGy. The microbial contents of Zizyphi Spinosi Semen and Atractylodis Rhizoma were  $10^2$  to  $10^6$  CFU/g and  $10^3$  to  $10^4$  CFU/g, respectively, and both of their decontamination dose was 2 kGy. The decontamination dose of Dendrobii Herba, Forsythiae Fructus, Curcumae Radix was 8 kGy, and the Rhizoma Polygonati was 6 kGy. The sufficient does for inactivating *Enterobacteriaceae* was 4 kGy.

In this study, we also investigated the microbial contents of CMHs during a three-month storage at room temperature after gamma irradiation, samples were put directly onto the culture medium for culture and observation, the results show that after a 7-day observation, no microorganism grew in the culture medium or on the medicinal material. Medicinal materials exposed to radiation presented neither visible alteration in their outward appearance or quality, nor discernible differences in the contents of their key components or in the HPLC composition diagrams before and after exposure to gamma irradiation. The conclusions drawn from this research can serve to the industry as a standard method for the decontamination of Chinese medicinal materials by gamma irradiation or serve to the government institutions as a reference to set up regulations related to the decontamination of Chinese medicine materials by gamma irradiation and the control of the specifications for the import of Chinese medicinal materials. In addition, the results of this study can also build up an understanding of the consumers in order to develop a market for decontaminating Chinese medicinal materials by irradiation, resulting in an increase of the economic rendering effectiveness of Chinese medicinal materials.

Keywords : Chinese medicinal herbs, gamma-ray sterilization, microorganisms

## 壹、前言

台灣每年有大量之中藥材由中國大陸等地進口，除提供國人使用，亦可於加工增值後出口至歐美國家。中藥材因基原不同，土壤成份、栽植環境或包裝、貯存、運輸等人為影響，造成中藥材中微生物含量有極大差異。在台灣高溫多濕的環境下，中藥材中的微生物易於大量滋生，微生物的生長腐蝕，將耗損藥材成份、抑低療效，甚或產生不良物質，尤其生服之藥材將更直接影響食用者之衛生安全。每年有大批中藥材因微生物污染而銷毀，為確保進口藥材之品質維護國人用藥安全，同時因應加工中藥材在出口時所必須面對外國之相關檢驗規範，急需建立我國的中藥材採購、檢驗標準程序，並與國外相關機構建立良好合作關係。近幾年來歐美、亞洲及澳洲皆十分重視中草藥製藥產業，尤其中國大陸藉由其產源之優勢，正積極的經由建立法規規範以求其產業發展。而世界各國之研究單位亦不斷發表相關傳統醫學的文章，據其資料更顯示全球有八成之人口使用中草藥，發展中草藥製藥產業將是未來最具潛力的產業。因而中草藥的原料、種植及品質應予管制，並訂定規格掌控優質原料<sup>(44)</sup>。輻射滅菌是中藥材保存之最佳方式，目前國內已有多家廠商委請中國生化公司等進行輻射滅菌，已進行輻射滅菌之中藥包括：甘草、當歸、冬蟲夏草、西洋參、黃耆、枸杞、靈芝、六味地黃丸等科學中藥及四物湯包、人參綜合茶包等。輻射滅菌進行時不會明顯提高受照射物之溫度，可於包裝後再進行輻射照射，不會有包裝加工時之二次污染，是中藥材滅菌最好方法，應加以研發拓展，尋求最適之輻射滅菌劑量，以供政府相關單位研訂中藥材輻射照射滅菌法規之參考依據。

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<sup>(21, 22, 24, 29-32)</sup>。中國大陸已有廣西中醫院、第四軍醫大學西藥醫院、湖南醫科大學藥劑科、長春市中醫院、湖南醫科大學附二醫院及上海市中藥研究所等單位，進行川烏加馬線照射前、後生物活性之影響、大黃加馬線滅菌後主成份之影響、黃蓮上清丸加馬線滅菌之效果及對藥物活性之影響、鉤藤輻射滅菌前、後生物活性比較試驗研究等，顯示中國大陸在中藥及成藥之輻射滅菌上有相當深入的研究與應用<sup>(38-40, 42, 43, 46, 47)</sup>。國內雖對蝦粉、雞丁、牛肉粉、豬肉粉及大蒜等食物已訂定輻射照射法規，但對中藥材之輻射滅菌劑量則尚未研訂。目前已有許多國家對藥草之輻射滅菌進行探討。由聯合國工業發展組織(UNIDO) 1984年之規定，未經加工之草藥每克重量所含之好氣菌量不得多於  $1\times 10^4$  個，含酵母菌及黴菌量不得多於 100 個，*Bacilli* 類之腸內桿菌群不得多於 100 個，

且不得含有大腸桿菌(*E. coli*)、綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)，及金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)等病原菌<sup>(33)</sup>。波蘭之藥物工業每年生產數千噸的草藥之滅菌，因化學方法在微生物除污上已被認定為具危險性及缺乏安定性，故選擇以輻射照射之方法取代之<sup>(25)</sup>。對多數之草藥原料及草藥經 10 kGy 照射後可達良好的滅菌效果，且經 10 kGy 照射後，草藥中之 flavonoids、glycosides、anthocyanins、triterpene saponins 等成份及植物中之黏液成份並無明顯改變<sup>(20)</sup>。巴西每年有價值 2 千 2 百萬美元之藥用植物出口，已進行多樣植物之輻射滅菌研究，顯示一般經 10 kGy 輻射滅菌對多數植物中之 tannins、phenolic 及  $\beta$ -carotene 等含量不會造成明顯的影響，只有少數植物經 10 kGy 劑量照射後上述成份出現含量稍降低之現象<sup>(23)</sup>。日本許多廠商已將商品化的照射香料、藥草，供應一般食物用<sup>(31)</sup>。各國草藥核可照射劑量如下：比利時、中國大陸、加拿大、法國、挪威、波蘭與南斯拉夫之許可劑量為 10 kGy，丹麥與荷蘭為 15 kGy、美國為 30 kGy，韓國核可人參照射之劑量為 7 kGy。美國食品藥物管理局(FDA)於 1986 年通過兩項食品照射法規，其中指出乾燥或脫水的芳香蔬果植物，如香辛料及蔬菜調味料，可使用 30 kGy 之劑量進行處理<sup>(16, 17)</sup>。世界衛生組織 (WHO)於 1999 年發表之 FAO/IAEA/WHO 之專家聯合報告指出經低劑量照射之食品是安全的，不需毒性試驗<sup>(37)</sup>。國外已有許多草藥及肉桂、豆蔻等香料與醫療用品、化妝品原料、藥物 (如抗生素等)，及多項食品進行輻射照射滅菌之研究<sup>(1-6, 15, 18, 19, 26-28, 34, 35)</sup>。如大豆之重要成份異黃酮素 (isoflavones) 及卵磷脂 (lecithin)，在經 5 kGy 加馬射線照射滅菌後並無顯著改變，甚至分析其抗氧化物質 (如 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 含量隨照射劑量而增加<sup>(26, 34)</sup>；冰淇淋經 3 kGy 劑量照射後其風味及成份無明顯變化<sup>(27)</sup>；化妝品原料中主要的微生物為黴菌與革藍氏陰性菌，分別使用 1-2 kGy 及 0.1~0.6 kGy 劑量可達滅菌效果<sup>(19)</sup>。

中藥能否安全貯存之重要關鍵為其中的微生物含量，在台灣高溫多濕的環境中，利於中藥材中之微生物生長，將破壞中藥材的成份、降低療效，甚至可能產生有害物質，危害服用者之健康，造成醫療保健上的問題，本研究為探討中藥材輻射滅菌之最適條件，以妥善保存中藥材。

## 貳、材料與方法

### 一、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同位素組之三萬居里鈷六十照射熱室中進行。照射劑量範圍係參考文獻及個人先前對中藥材輻射照射滅菌之研究成果，訂於 1 kGy 至 30 kGy (劑量率為 5 kGy/h)。輻射劑量測定以硫酸亞鐵水溶液劑量計(Frick's dosimeter)進行。其成份包括 0.001 M FeSO<sub>4</sub>, 0.001 M 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<sup>2+</sup>)氧化成鐵離子(Fe<sup>3+</sup>)，以 304 nm 或 224 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<sub>4</sub> 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，可使劑量範圍增至 10<sup>5</sup> Gy。

### 二、中藥材輻射照射

中藥材來源分列如下，霍山石斛為蘭科植物金釵石斛(*Dendrobium nobile* LINDEL.) 或霍山石斛 (*D. officinale* K. KIMURA et MIGO) 及同屬近緣植物之乾燥莖；鬱金為薑科植物鬱金(*Curcuma aromatica* SALLSB.) 之乾燥塊根；黃精為百合科植物輪葉黃精(*Polygonatum sibiricum* REDOUTE) 及同屬近緣植物之乾燥根莖；冬蟲夏草為麥角菌科植物冬蟲夏草菌(*Cordyceps sinensis* (BERK.) SACC.) 寄生於鱗翅類昆蟲幼蟲之乾燥屍體；蒼朮為菊科植物茅蒼朮(*Aractylodes lancea* (THUNB.) DC.) 及同屬近緣植物之乾燥根莖；酸棗仁為鼠李科植物酸棗(*Zizyphus spinosa* HU) 之乾燥種子；連翹為木犀科植物連翹 (*Forsythia suspensa* VAHL.) 及同屬近緣植物之乾燥果實；神曲為辣蓼、青蒿、杏仁等加入麵粉或麩皮混合，經發酵而成之麴劑，皆為老范志万應神曲。

對每樣品進行五個來源、三重複取樣，每次取樣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，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，使照射樣品瓶中之樣品得到均勻的輻射劑量率，照射溫度為室溫 (25±5°C) 樣品經不同照射時間取樣，以得到所需之照射劑量。照射後樣品立刻取出進行微生物含量測試。另以同樣方式將中藥材樣品取

樣後於包裝袋中密封，分別以不同劑量照射後，進行成份份分析、色澤測定及貯存試驗。

### 三、培養基及磷酸緩衝液之配製

- (一) TSA、PDA 及 Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA；Difco. Co.) 平板培養基之製備：取 TSA、PDA 粉末分別加入之三角瓶中，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 培養基因不可高壓滅菌，故經加熱攪拌至沸騰且呈暗紅色透明為滅菌程序，沸騰時間不超過二分鐘。滅菌完，待其溫度降至 50-60°C 時，分別倒入直徑 9cm 之培養皿中，每皿約 10-15mL，待其冷卻即可。
- (二) 液態培養基 Plate Count Broth (PCB；Difco. Co.) 製備：取 PCB 粉末 17g，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。
- (三) 磷酸緩衝液之製備：取 4.54 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.43 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O，先溶於少許水中，再將體積加至 1L (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。

### 四、微生物之菌數測定及分離

- (一) 照射後樣品取出即加入磷酸緩衝液於 4°C 下浸泡 20 分鐘，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)、傾倒培養法 (pour plate count) 測菌數。培養基 TSA 用於測定 total bacterial count；PDA 培養基測定真菌及酵母菌；而 VRBGA 培養基可測定 total Enterobacteriaceae(24)。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. 傾倒平板計數法：將受測樣品做系列之不同濃度稀釋，以期取得每 1 mL 中生成之菌落數為 30-300 個，待滅菌後之 PCA、PDA 及 VRBGA 培養基降溫到約為 45°C 後，倒入已加入 1 mL 欲測試菌數之樣品之培養皿中，輕搖使微生物個體於培養基中均勻分佈，待培養基凝固後，將之置放 25°C 及 30°C 之培養

箱中，第二天取出計數生長較快之菌落，於第四天再取出，計數生長較緩慢之菌落。每一測試濃度均作三重複計數。

2.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。

(二) 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 1-7 天。每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。

## 五、中藥材照射前、後色澤變化與感官品質探討

- (一) 以目測及解剖、倒立顯微鏡觀察中藥材，並照相記錄照射前、後的樣品之外觀形狀、顏色等是否變化。
- (二) 對於外觀均質之受測中藥材樣品，如酸棗仁，以色差計 (color meter) 測定樣品之 Hunter L (亮度)、a (+紅色度、-綠色度)、b (+黃色度、-藍色度)，探討照射是否影響其之外觀色澤。將顆粒完整無破碎之酸棗仁裝入直徑 3 cm 之圓形石英槽中 (約 5 克/次)，佈滿底面後測量整個底面之顏色。每一樣品進行 4 重複之測量。

## 六、藥材之主成份及指標成份分析

輻射照射後對中藥材之成分影響探討，選取 2 種需較高劑量方能達完全滅菌之樣品，將其樣品以夾鏈袋分裝後，進行所需之滅菌劑量照射後，探討其成分變化。

### (一) 冬蟲夏草

1. 取適量樣品以研磨機研磨至粉末狀，並均勻混合。秤取約 0.25g 的樣品，置於 200 ml 圓底瓶中。加入 10mL 的水，迴流 1 小時後離心，取上清液至 25ml 定量瓶中。沉澱物加入 10mL

的水，迴流 1 小時後離心，取上清液至上述之定量瓶中。重覆迴流步驟一次後將 25 ml 定量瓶中之液體加水定量至刻度，以 0.45μm 濾膜過濾後即為樣品溶液。

## 2.HPLC 分析條件

指標成分標準品：Adenosine free base

層析管柱：Cosmosil 5C18-MS-II 4.6×250mm

層析管柱溫度：40°C

移動相：

Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)
0	100	0
20	90	10
30	85	15
50	80	20

移動相流速：1.0mL/min

檢測波長：260nm

注射量：10μL

## (二) 蒼朮

1. 取適量樣品以研磨機研磨至粉末狀，並均勻混合。秤取約 0.1g 的樣品，置於 50mL 玻璃瓶中。加入 10mL 的 70% EtOH 水溶液，以超音波震盪機震盪 15min 後，取澄清液以 0.45μm 濾膜過濾至 25mL 定量瓶中。重覆萃取步驟一次後，再以 70% EtOH 水溶液定量至刻度，即為樣品溶液。

## 2.HPLC 分析條件

指標成分標準品： $\beta$ -Eudesmol

層析管柱：Atlantis® dC18, 4.6 x 250mm, 5μm

層析管柱溫度：30°C

移動相：

Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)
0	10	90
25	60	40
35	60	40
50	10	90

移動相流速：1.0mL/min

檢測波長：210nm

注射量：20μL。

## 參、結果

### 一、中藥材加馬線照射滅菌

神麴、連翹、酸棗仁、鬱金、霍山石斛、蒼朮、冬蟲夏草及黃精之加馬線輻射滅菌及微生物含量測定，係將經不同輻射劑量處理後之中藥樣品分別：A.直接置於培養基表面作微生物生長之定性測試，及B.將樣品浸於緩衝液中振盪，取浸液經適當稀釋後塗抹於培養基表面，於第1至5天連續觀察微生物相，並計數不同劑量照射後樣品中微生物之殘存率。

實驗結果顯示不同中藥材之微生物含量及微生物相有極大不同，而同一種中藥因取樣批次不同微生物含量亦有很大差異。冬蟲夏草、神麴、蒼朮及酸棗仁經不同劑量照射後之殘存微生物量的結果列如表一，其中冬蟲夏草五個採樣批次中，樣品所含菌數約 $10^4\sim 10^6$  CFU/g，經 10 kGy 照射後微生物之殘存量小於 10 CFU/g，需 14 kGy 照射方能使樣品達完全無菌。圖一表示冬蟲夏草樣品經不同劑量照射後直接放置在 TSA 平面培養基上培養 2 天的情形，結果顯示未經照射之樣品布滿黴菌與細菌，經 4 kGy 照射後明顯減少，經 8 及 12 kGy 照射後僅存一黃色菌株殘存。且同一支冬蟲夏草樣品之蟲體部分與菌絲體部分上所長的微生物種類各具其特異性。圖二為未經照射及經 4、8 kGy 照射後之冬蟲夏草樣品，取其磷酸懸浮液稀釋後塗佈於培養基上培養 2 天後之微生物相，此黃色菌株為優勢菌株，至 8 kGy 時除黃色優勢菌株殘存外，另有一菌落較小的粉紅色菌株殘存。

神麴所含菌數約 $10^4\sim 10^7$  CFU/g (表一)，圖三所示神麴未經照射者直接至於培養基上培養，不同批次其微生物相亦有差異，浸液塗抹者經培養 2 天後，有大量微生物生長，且菌相單純，經 8 kGy 照射後明顯菌數減少，10 kGy 照射可達無菌。

蒼朮所含菌數約 $10^3\sim 10^4$  CFU/g (表一)，雖未經照射之生菌數即不高，但大部分樣品仍需經 10 kGy 照射始可達無菌，其中一批需至 12 kGy 照射可達無菌。圖四中未經照射之蒼朮經培養 2 天後佈滿黴菌，經 12 kGy 照射後可達無菌。

酸棗仁所含菌數約 $10^2\sim 10^6$  CFU/g (表一)，除其中一批需至 12 kGy 照射可達無菌，大部分經 10 kGy 照射都可達無菌。圖五中未經照射之酸棗仁經培養 2 天後佈滿黴菌，經 10 kGy 照射後培養則為無菌。

連翹、鬱金、霍山石斛及黃精經不同劑量照射後之殘存微生物量的結果列如表二，其中連翹所含菌數約  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g，經 8 kGy 照射可達無菌。圖六亦顯示 8 kGy 照射之連翹直接至於培養基上培養已無微生物生長，而未經照射之樣品其浸液塗抹培養會有大量微生物生長，經 4 kGy 照射後則殘存菌數明顯減少。

鬱金所含菌數約  $10^1 \sim 10^3$  CFU/g，經 8 kGy 照射可達無菌(表二)。圖七顯示未經照射之鬱金直接置於培養基上培養，呈現微生物滋長及藥材黑化情形，但經 6 kGy 照射後未見微生物生長。

霍山石斛依其型態差異所含菌數亦有所不同。本品為蘭科植物金釵石斛 (*Dendrobium nobile* LINDL.) 或霍山石斛 (*D. officinale* K. KIMURA et MIGO) 及同屬近緣植物之乾燥莖，其中金釵石斛外表綠金黃色，表面較平坦光滑，有微細縱紋理及少數粗糙紋，節痕明顯，棕色，質輕，斷面類白色，有短纖維（維管束）露出；霍山石斛則呈細條狀，多扭曲盤繞成團，外表金黃色，表面有扭曲縱皺紋，節明顯，棕黑色(中醫藥委員會網站資料)。圖八為兩種石斛輻射滅菌直接置於培養基上培養 2 天所呈現之微生物相，圖八 A、B 為金釵石斛，經 4 kGy 照射之樣品未見菌落生長；C、D 為霍山石斛經 12 kGy 照射樣品始可達無菌。另取其磷酸懸浮液稀釋後塗佈於培養基上培養 2 天後觀察計數其微生物相，得知金釵石斛所含菌數較低約  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g，經 8 kGy 照射可達無菌(表二)；霍山石斛所含菌數較高約  $10^5 \sim 10^6$  CFU/g，則需至 12 kGy 照射方可達無菌(表二)。另霍山石斛因產量少可能沒有市售品，本計畫所採樣霍山石斛樣品係向進口商及市售商店購得稱為霍山石斛之藥材或為其同屬近緣植物。

黃精所含菌數較低約  $10^2$  CFU/g，經 6 kGy 照射即可無菌(表二)。圖九顯示黃精直接至於培養基上培養時，已可見微生物偏低，經 2 kGy 照射後樣品則無明顯可見之微生物菌落。

實驗中以 VRBGA 平面培養基測定中藥材中的腸內菌(*Enterobacteriaceae*)含量，對八種中藥材，每一藥材進行五批採樣之腸內菌測試，結果顯示只有冬蟲夏草之 2 批採樣、酸棗仁之 2 批採樣及蒼朮的 2 批採樣樣品測出腸內菌。結果如表三所示，未經照射之冬蟲夏草中含有  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g 之腸內菌，經 4 kGy 照射可將腸內菌殺滅；酸棗仁樣品中測出  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g 之腸內菌，以 4 kGy 照射亦可將此菌殺滅；蒼朮中含有  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g 之腸內菌，經 2 kGy 照射可將腸內菌殺滅。

實驗中以 PDA 平面培養基測定中藥材中的黴菌及酵母菌含量，結果如表四所示。其中冬蟲夏草與石斛各取五批樣品中均出現黴菌，所含黴菌數約  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g，經 6 kGy 照射可將黴菌殺滅；蒼朮所含黴菌數約  $10^1 \sim 10^4$  CFU/g，亦經 6 kGy 照射可將黴菌殺滅；酸棗仁、連翹所含黴菌經 4 kGy 照射即可殺滅；神麃所含黴菌數約  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g 經 2 kGy 照射即可殺滅，五批鬱金樣品中僅有一批採樣出現黴菌經 2 kGy 照射可殺滅。所有採樣之黃精皆未曾檢測出黴菌。

## 二、中藥材貯存試驗

將 8 種中藥材分別以夾鏈袋分成小袋包封，各自依其所需滅菌劑量進行照射，而後置於室溫中貯藏，於貯藏第 3 個月時取出樣品，測其中生菌數含量並與未經照射者比較。結果顯示各中藥材包裝後以完全滅菌所需之輻射劑量照射處理後，經 3 個月之室溫貯藏後，樣品懸浮液培養後無微生物殘存，且樣品直接置於平面培養基上培養觀察，經 1~7 天後，培養基及中藥材上亦無微生物生長。

## 三、照射後中藥材之品質測試

各中藥材因產地來源、加工過程或切片方式等不同，造成其外觀形狀或顏色等變化甚大。實驗中選擇外觀形狀較均質之酸棗仁測試輻射照射對藥材色澤之影響，結果如表五所示，編號 I 之照射前酸棗仁測得之平均 Hunter L、a、b 值(L 為明度、+a 代表紅色、-a 代表綠色；+b 代表黃色、-b 代表藍色)分別為  $26.00 \pm 0.47$ 、 $11.15 \pm 0.76$  及  $8.38 \pm 0.44$ ；經 10 kGy 照射後測得之平均 Hunter L、a、b 值分別為  $25.94 \pm 0.38$ 、 $10.09 \pm 0.32$  及  $7.45 \pm 0.23$ ，與未經照射者比較，有少許變化；編號 II 之照射前酸棗仁測得之平均 Hunter L、a、b 值，顯示照射後酸棗仁樣品的 L、a、b 值分別為  $25.00 \pm 0.78$ 、 $7.63 \pm 0.43$  及  $6.64 \pm 0.39$ ；經 12 kGy 照射後測得之平均 Hunter L、a、b 值分別為  $24.77 \pm 0.59$ 、 $7.58 \pm 0.16$  及  $6.44 \pm 0.40$ ，則與未經照射者比較無明顯變化。

## 四、中藥材照射前後成份分析

受測中藥材中，選擇冬蟲夏草及蒼朮測試輻射照射後之成分變化。表六為冬蟲夏草及蒼朮照射處理前後之指標成份含量變化，冬蟲夏草未經照射及經 14kGy 照射之指標成分 Adenosine 平均含量分別為

0.270±0.010 mg/g 及 0.257±0.011mg/g；蒼朮未經照射及經 10kGy 照射之指標成分  $\beta$ -Eudesmol 平均含量均為 10.35±0.30 mg/g 及 9.93±0.27 mg/g，顯示經輻射滅菌後指標成分無顯著性變化。

## 肆、討論

本計畫測試之八種中藥材中，神麃其單位重量之最高微生物含量可達  $10^7$  CFU/g，於同一種中藥材之不同批次取樣之微生物含量有明顯差異，以 10 kGy 照射可達完全無菌，冬蟲夏草單位重量菌數為  $10^4 \sim 10^6$  CFU/g，經 14 kGy 可完全滅菌。酸棗仁單位重量菌數為  $10^2 \sim 10^6$  CFU/g，和蒼朮單位重量菌數為  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g，至 12 kGy 照射可以完全滅菌。本研究收集之市售石斛有兩種，其含菌量有極大差異，所需滅菌劑量亦不相同，捲曲狀之霍山石斛需 12 kGy 始可完全滅菌，因市售石斛種類多樣，後續研究建議個別再增加採樣批次，配合基原探討，以進一步探討其個別最佳滅菌劑量。其餘四種中藥材，以小於 10 kGy 之照射劑量即可完全滅菌。金釵石斛、連翹、鬱金以 8 kGy、黃精以 6 kGy 照射即可達完全滅菌。實驗中同時測定中藥材中的腸內菌含量，部份樣品測出腸內菌含量為  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g，但以 4 kGy 照射即可將受測樣品中之腸內菌殺滅。實驗中所測之中藥材除黃精外皆出現黴菌(低於  $10^4$  CFU/g)，且相同藥材不同批次間黴菌菌種差異極大，顯示應非為藥材本身共生依附之黴菌，極可能為中藥材由產地至消費地之長時間運輸及中藥材儲存方式所致，而長時間之微生物生長除消耗藥材外，對藥材中成分亦可能造成耗損。若能於產地將中藥材適當包裝後以輻射滅菌，應是中藥材最佳的保存方法。

因單一方法測試中藥材中微生物含量不盡完善，我們的研究以二種方法測試之，二種方法各有優缺點，但可用以相互比對。第一種方式為將中藥材樣品直接置於平面培養基上觀測微生物生長，除以目視計數菌數外，還需以解剖顯微鏡同時觀察，因有些微生物生長於結構較不平整或色澤較不一致之藥材表面，故菌落較不突顯，且於目視時易被忽略，以鏡檢較易見到藥材中之微生物生長，並可觀察微生物於中藥材上生長及藥材受腐蝕之狀況，但微生物含量高時菌落常重疊生長，無法明確計數菌落數。由藥材周圍向培養基上延生之微生物菌落或菌絲，是為判別微生物污染之觀察點，但需注意的是，部分微生物對藥材成份具特別的需求，會選擇生長於藥材上，並不由藥材向鄰近培養基延伸，尤其菌落顏色與藥材相同時更不易目測，此時需於顯微鏡下觀察。以此方法可使對中藥材成份有特殊需求之微生物能有生長表現之機會。由鬱金及冬蟲夏草上可發現，某些特殊菌種無法在一般的培養基上生長，而以中藥材為基質，顯示某些特殊菌種需要藥材上之特殊成分生長。如同一支冬蟲夏草樣品，置於 TSA 培養基中生長，即可見蟲體與菌絲體上所生成之菌落有明顯的特異性差異，顯示某些中藥材上生長之菌種是對中藥材中之成分有特異的需求選擇。

而第二種方法為將中藥材浸泡、震盪，經適當稀釋後取浸液塗佈於培養基上，待菌落長成後觀察並計數之。此法菌落之生長分明、易於計數，但對中藥材成份有特殊需求之微生物可能無法長成菌落以供計數。因此以此二種方法同時檢測中藥材之微生物含量是必要的。此外，經照射後藥材之微生物生長常較未經照射處理之藥材緩慢，所以需稍延長觀察時間。藥材中之微生物含量雖是決定輻射照射劑量之重要因素，但其中微生物分佈之均勻度及主要菌株之輻射抗性亦是決定輻射照射劑量之重要因素。本次蒼朮樣品觀察微生物相時，顯示其未經照射時含菌量並不高 ( $10^3 \sim 10^4$ )，但隨照射劑量上升菌數並未迅速減少，直至 12 kGy 照射始完全滅菌，其滅菌所需劑量與其他高含菌數 ( $10^4 \sim 10^6$ ) 之中藥材相當，顯示受測中藥材輻射滅菌所需之劑量與其含菌量並非一定線性相關，中藥材中存在菌種之抗輻射性影響所需照射劑量<sup>(7-9)</sup>。

測試酸棗仁經輻射照射後對藥材色澤之影響（表五），編號 I 之酸棗仁經 12 kGy 照射後其顏色有些微變化，但編號 II 之酸棗仁經 10 kGy 照射後其顏色則無明顯變化，顯示分與照射劑量成正比改變。由兩編號樣品間，同一係數 (a、b) 之差異大於照射前後之差異，顯示不同批次間之顏色差異大於照射前後之顏色差異，輻射照射滅菌應不明顯受測之藥材色澤。

神麴為是傳統中藥的一種常用的消化類中藥，其傳統炮製用大量麥粉、麩皮、杏仁泥、赤小豆粉，以及鮮青篙、鮮蒼耳和鮮辣蓼自然汁混合拌勻，使不乾不濕，做成小塊，放入筐內，覆以麻葉保溫發酵一週，長出菌絲（生黃衣）後，取出曬乾即成。水煎服或研沒入丸、散，宜炒焦用。其成分含酵母菌、澱粉酶、維生素 B 複合體、麥角固醇、蛋白質及脂肪、揮發油等<sup>(48)</sup>。當神麴入煎劑，其中微生物則可能會被殺滅，而口服神麴粉及含神麴粉的藥品，其中酵母菌則被認為具有腸道微生態調整效果，而被廣泛用於臨床。但是由微生物培養中得知除酵母菌外，尚有多種黴菌及雜菌存在，若以直接口服，則藥材品質及療效堪慮。另外吳曉玲等（2001）針對神曲（神麴）及含神曲中成藥染菌情況調查報告中指出神曲中成藥染菌情況嚴重，未經特殊處理的神曲及含神曲中成藥均有大腸菌群污染<sup>(41)</sup>。胡靜等（2004）則指出受測之 6 個神曲樣本均含有大量的酵母菌，其中 2 個樣本含有少量的乳酸桿菌，另外 6 個神曲樣本中均含有大量雜菌<sup>(45)</sup>。目前受測之神麴樣品以 2 kGy 照射可將黴菌殺滅，雜菌則需經 10 kGy 照射始可完全滅菌，不免有所疑慮是否影響口服神麴之腸道微生態調整作用，因此，如何尋求神麴之品質穩定，有效抑制雜菌與黴菌，並保有其療效，有待更進一步的研究與分析。

## 伍、結論與建議

中藥除基原不同，其採收、加工、炮製、包裝、運輸與貯存環境或防腐劑的添加等，均可能造成各中藥材中微生物含量之差異。進口中藥材常因微生物嚴重污染而整批銷毀，而污染情形輕者則難免將就使用，其污染可能原因為藥材攜帶產地之微生物、運輸途中外來之微生物污染、再加上運輸與貯存過程微生物繼續滋生所致。若能在藥材仍新鮮的狀況下，於產銷上游即先進行規格化包裝與輻射滅菌，可避免長途運輸中微生物大量滋生，可以延長商品時間、保持藥材品質。輻射滅菌在低溫下進行，無須添加任何物質，可於藥材包裝後再進行滅菌，可以避免包裝時之二次污染，且鈷六十加馬照射不會誘發放射性物質，故為中藥材滅菌、滅蟲最好方法，有必要研發推廣。

由本實驗結果建議中藥材樣品完全滅菌之所需照射劑量分別為：冬蟲夏草以 14 kGy 劑量照射；蒼朮及酸棗仁以 12 kGy 劑量照射；神麴以 10 kGy 劑量照射；連翹及鬱金以 8 kGy 劑量照射；石斛若為金釵石斛則以 8 kGy 劑量照射，若為霍山石斛則以 12 kGy 劑量照射；黃精以 6 kGy 劑量照射。期提供企業界進行中藥材加馬線滅菌之方法，及行政單位研訂中藥材加馬線滅菌貯存照射劑量法規之參考，開發輻射滅菌中藥市場，確保中藥的衛生安全，解決醫療保健上的問題，以建立消費者之認同，提高中藥之經濟效益。

## 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 CCMP94-RD-010 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. Abou-Shady, M. R., El-Beih, Fawkia. M. and Tawfik, Zahira. S. 1992. Role of lipids in bacterial radioresistance. 5 th conf. Nucl. Sci. App., 2, 513-523.
2. Aziz, N. H. and Abd El-Aal S. S. 1990. Influence of potassium sorbate and sodium denzoate on gamma irradiated conidia of *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium chrysogenum* and *Fusarium moniliforme*. Isot. Rad. Res., 22, 113-150.
3. Aziz, N. H., El-Fouly, M. Z., Abu-shady, M. R. and Moussa, L. A. A. 1997. Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal flora contaminating medicinal plants. Appl. Radiat. Isot., 48, 71-76.
4. Aziz, N. H., Refia, M. K. and Abd El-Aal, S. S. 1990. Occurrence of afal toxin and aflatoxigenic molds in coffee beans and decontamination by gamma-irradiation. J. Egypt Vet. Med. Ass., 49, 951-961.
5. Byun, M. W., Kim, J. H., Lee, J. W., Park, J. W., Hong, C. S. and Kang, I. J. 2000. Effects of gamma radiation on the conformational and antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. J. Food Prot., 63, 940-944.
6. Byun, M. W., Lee, K. H., Kim, D. H., Kim, J. H., Yook, H. S. and Ahn, H. J. 2000. Effects of gamma radiation on sensory qualities, microbiological and chemical properties of salted and fermented squid. J. Food Prot., 63, 934-939.
7. Chou, F. I. and Tan, S. T. 1990. Manganese (II) Induces Cell Division and Increases in Superoxide Dismutase and Catalase Activities in an Aging Deinococcal Culuture. J. Bacteriol., 172, 2029-2035.
8. Chou, F. I. and Tan, S. T. 1991. Salt-Mediated Multicell Formation in *Deinococcus radiodurans*. J. Bacteriol., 173, 3184-3190.
9. Chou, F. I. 1998. Pollen Gamma-ray Irradiation. Nucl. Sci. J., 35, 165-171.
10. Chou, F. I. 1999. The sterilization of pollen with cobalt-60 gamma radiation-a study of the radiation resistance of strain isolated from pollen. Plant Pathology Bulletin., 7, 23-28.
11. Chou, F. I., Chung, H. P., Chung, R. J., Wei, Y. Y., Chen, C. J. and Chang, C. G. 1999. The sterilization of lycium fruit with cobalt-60 gamma radiation. Nucl. Sci. J., 36, 302-308.
12. Chou, F. I., Chung, H. P., Wen, H. W., Chen, C. T. and Chang, C. G. 2001. The sterilization of Astragalus Radix with gamma-ray irradiation. Nucl. Sci. J., 38, 271-278.
13. Chou, F. I., Chung, H. P., Wen, H. W., Wei, Y. Y., Chen, C. T. and Chang, C. G. 2001. Sterilization of Chinese medicinal herbs with cobalt 60 gamma irradiation. Nucl. Sci. J., 38, 279-288.

14. Chou, F. I., Chung, H. P. and Wen, H. W. 2002. Effects of gamma irradiation on the storage quality of dry groats of coix. 89th International Association for Food Protection. P.64. June 30-July 3, San Diego, California U.S.A.
15. Chung, M. S., Ko, Y. T. and Kim, W. S. 2000. Survival of *Pseudomonas fluorescens* and *Salmonella typhimurium* after electron beam and gamma irradiation of refrigerated beef. *J. Food Prot.*, 63, 162-166.
16. Cottee, J., Kunstadt, P. and Fraser, F. 1995. Commercialization of Food Irradiation in the USA. *Radia. Phys. Chem.*, 46, 669-672.
17. Ehlermann, D. A. E. 1995. Dosimetry and Identification as a Tool for Official Control of Food Irradiation. *Radia. Phys. Chem.*, 46, 693-698.
18. El-Far, F., Aziz, N. H. and Hegazy, S. 1992. Inhibition by gamma-irradiation and antimicrobial food additives of aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus* in poultry diet. *Die Nahrung.*, 36, 143-149.
19. Katusin-Razem, B., Mihaljevic, B. and Razem, D. 2003. Microbial decontamination of cosmetic raw materials and personal care products by irradiation. *Radia. Phys. Chem.*, 66, 309-316.
20. Kim, M. J., Yook, H. S. and Byun, M. W. 2000. Effects of gamma irradiation on microbial contamination and extraction yields of Korean medicinal herbs. *Radia. Phys. Chem.*, 57, 55-58.
21. Loaharanu, P. 1994. Cost/Benefit Aspects of Food Irradiation. *Food Technol.*, 48, 104-108.
22. Mayermiebach, E. 1993. Food Irradiation-A Means of Controlling Pathogenic Microorganisms in Food. *Food Sci. Technol.-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie.*, 26, 493-497.
23. Migdal, W., Owczarczyk, B., Kedzia, B., Holderna-Kedzia, E. and Segiet-Kujawa, E. 1998. The effect of ionizing radiation on microbiological decontamination of medical herbs and biologically active compounds. *Radia. Phys. Chem.*, 52, 91-94.
24. Ouattara B., Giroux M., Smoragiewicz W., Saucier L. and 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.
25. Owczarczyk, H. B., Migdal, W. and Kedzia, B. 2000. The pharmacological activity of medical herbs after microbiological decontamination by irradiation. *Radia. Phys. Chem.*, 57, 331-335.

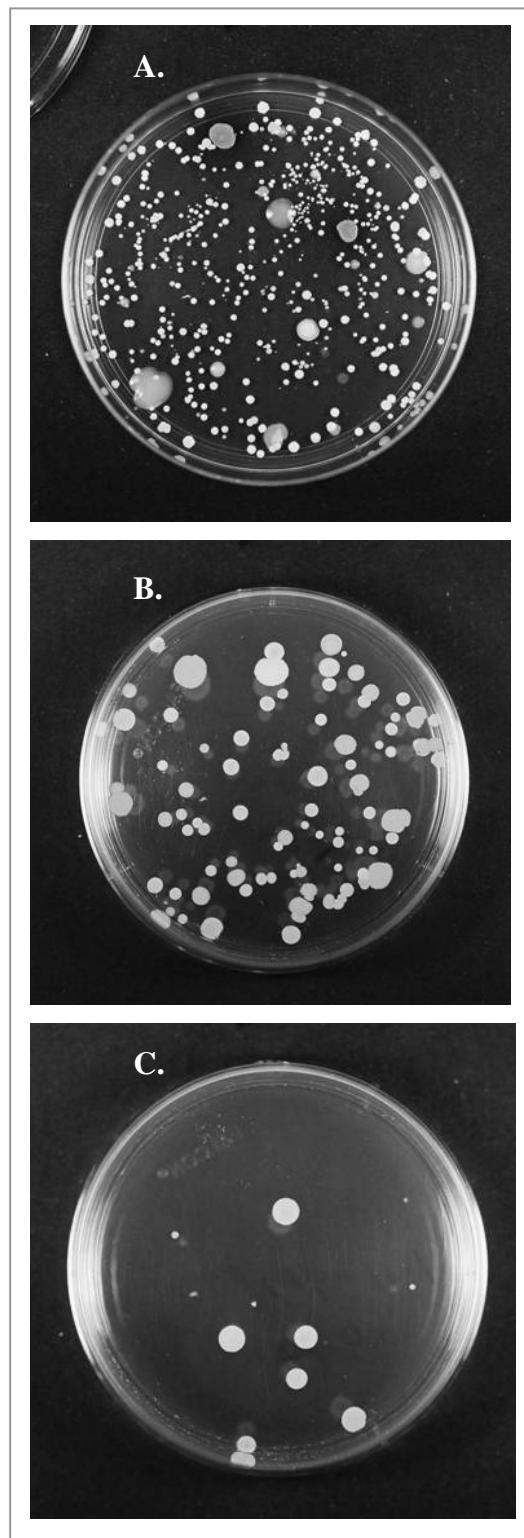
- 26.Pietranera, M. S. A. and Narvaiz, P. 2002. Physicochemical stability of fluid soybean lecithin gamma irradiated for decontamination purposes. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 35, 114-119.
- 27.Pietranera, M. S. A., Narvaiz, P., Horak, C. and Kairiyama, E. 2003. Irradiated icecreams for immunosuppressed patients. Radia. Phys. Chem., 66, 357-365.
- 28.Singh, L., Mohan, M. S., Sankarann, R., Sharma, R. and Sharma, T. R. 1988. The use of gamma irradiation for improving qualities of spices. J. Foods Sci. Technol., 25, 357-360.
- 29.Sommer, N. F. and Fortlage, R. G. 1996. Ionizing radiation for control of post-harvest diseases of fruits and vegetables. Adv. Food Res., 51, 147-193.
- 30.Stone, C. A., Odin, C., Howard, J. and Mumaw, L. D. 1994. High-School Experiments in Food Irradiation. Abs. Pap. Am. Chem. Soc., 207, 91-NUCL.
- 31.Takehisa, M. and Ito, H. 1986. Experiences of Food Irradiation in Japan. Food Rev. Int., 2, 19.
- 32.Thakur, B. R. and Singh, R. K. 1994. Food Irradiation-Chemistry and Applications. Food Rev. Int., 10, 437-473.
- 33.UNIDO. 1984. Guidelines for commercial plantation and manufacture of medicinal and aromatic plants.
- 34.Variyar, P. S., Limaye, A. and Sharma A. 2004. Radiation-induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max* Merrill). J. Agric. Food Chem., 52, 3385-3388.
- 35.Warke, R. G., Kamat, A. S. and Kamat, M. Y. 1999. Irradiation of chewable tobacco mixes for improvement in microbiological quality. J. Food Prot., 62, 678-81.
- 36.Wen, H. W., H. P. Chung, and F. I. Chou. 2006. The effect of gamma irradiation on microbial decontamination and chemical and sensory characteristic of lycium fruit. Radiation Physics and Chemistry. 75: 593-603.
- 37.WHO. 1999. High-Dose Irradiation: Wholesomeness of Food Irradiated with Dose above 10 kGy: Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group. In: World Health Organization Technical Report Series 890. WHO, Geneva, Switzerland, 7pp.
- 38.王暉、劉仁、王麗、1992，蜂王漿輻射技術的研究，中草藥，296-297，中國天津。
- 39.任延軍、李松林，1995，Co- $\gamma$  射線輻照玄駒膠囊原粒最佳輻照劑量選擇，基層中藥雜誌，19，p.31-32。

40. 向大雄、趙緒元，1994，鈷-60 輻射滅菌在中成藥中的應用，時珍國藥研究，p.35-37。
41. 吳曉玲、李春蓉，2001，神曲及含神曲中成藥染菌情況調查報告，FJ Medical Journal，123，109。
42. 李耀維，1994，黃蓮上清丸用  $\gamma$  射線輻照滅菌效果及對藥物活性的影響，山西中藥，10，p.43-44。
43. 周學優，1995，鉤簾 Co 輻照滅菌前後生物活性比較試驗，中成藥，p.45，中國上海。
44. 林宜信，建構台灣中藥用藥安全環境，行政院衛生署中醫藥委員會民國 93 年 12 月出版。
45. 胡靜、楊旭東、夏清平、蔡子微，2004，中藥“神曲”中微生物的研究，牡丹江醫學院學報，25，p.19-20。
46. 陳金月，1996，60 鈷- $\gamma$  射線輻照滅菌對大黃主要成份的影響，時珍國藥研究，p.154-155，中國黃石。
47. 劉希智，1996，川烏鈷六十  $\gamma$  射線輻照前後生物活性的研究，中醫藥信息，13，p.55。
48. 顏正華，1998，中藥學（上），知音出版社，p.436。

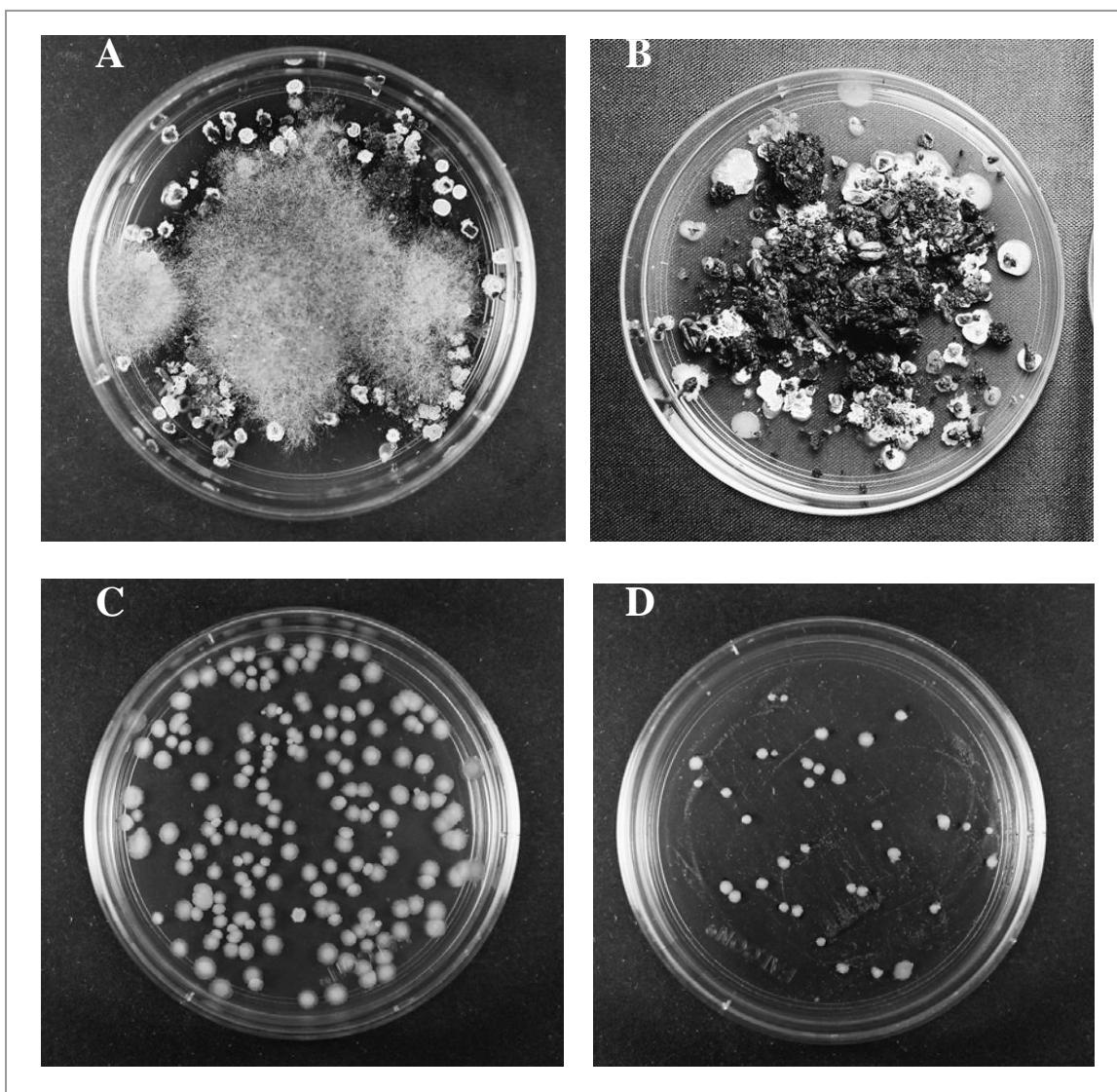
## 染、圖、表



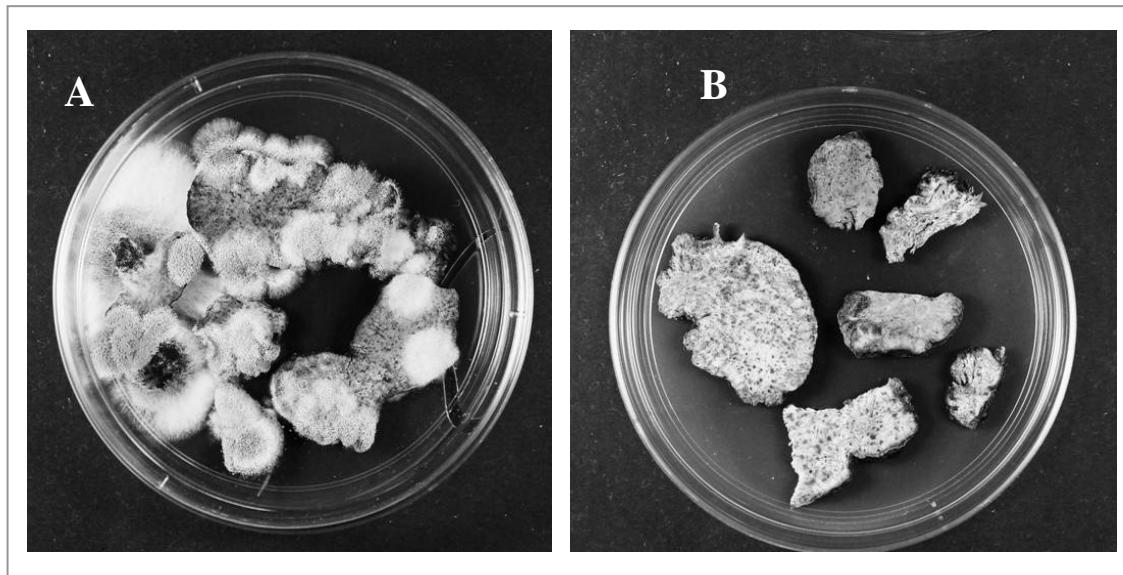
圖一 冬蟲夏草輻射滅菌：A 為未經照射、B、C、D 為經 4、8、12 kGy 照射後，將冬蟲夏草樣品直接置於 TSA 平面培養基上培養 2 天所呈現之微生物相。



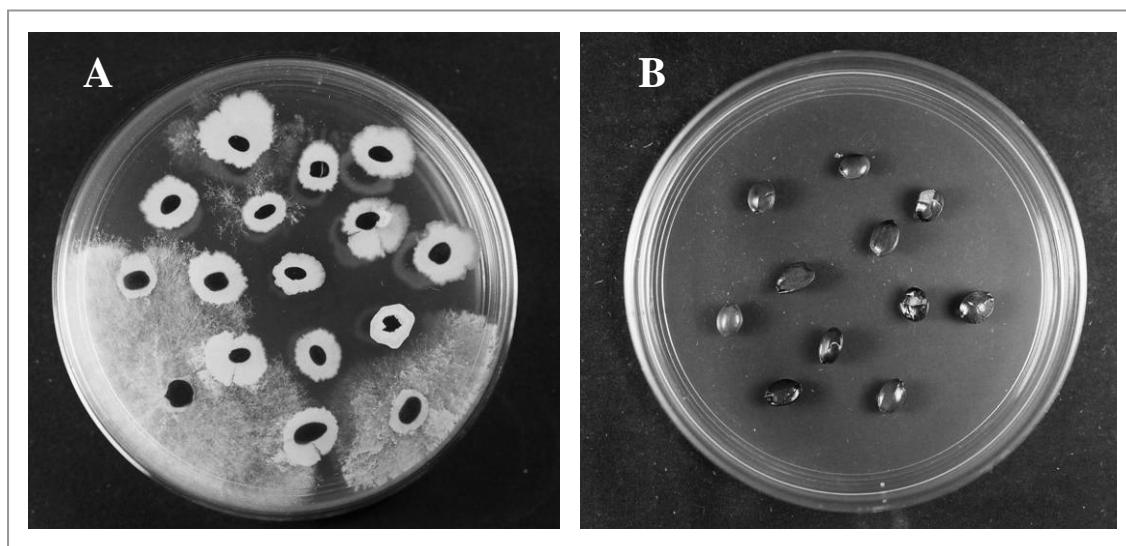
圖二 冬蟲夏草輻射照射前後之微生物相：A 為未經照射及 B、C 經 4、8 kGy 照射後，將冬蟲夏草樣品之磷酸懸浮液分別稀釋 300、30 倍，塗佈於 TSA 平面培養基上培養 2 天所呈現之微生物相，可見照射後樣品之菌株依照射劑量漸增而遞減。



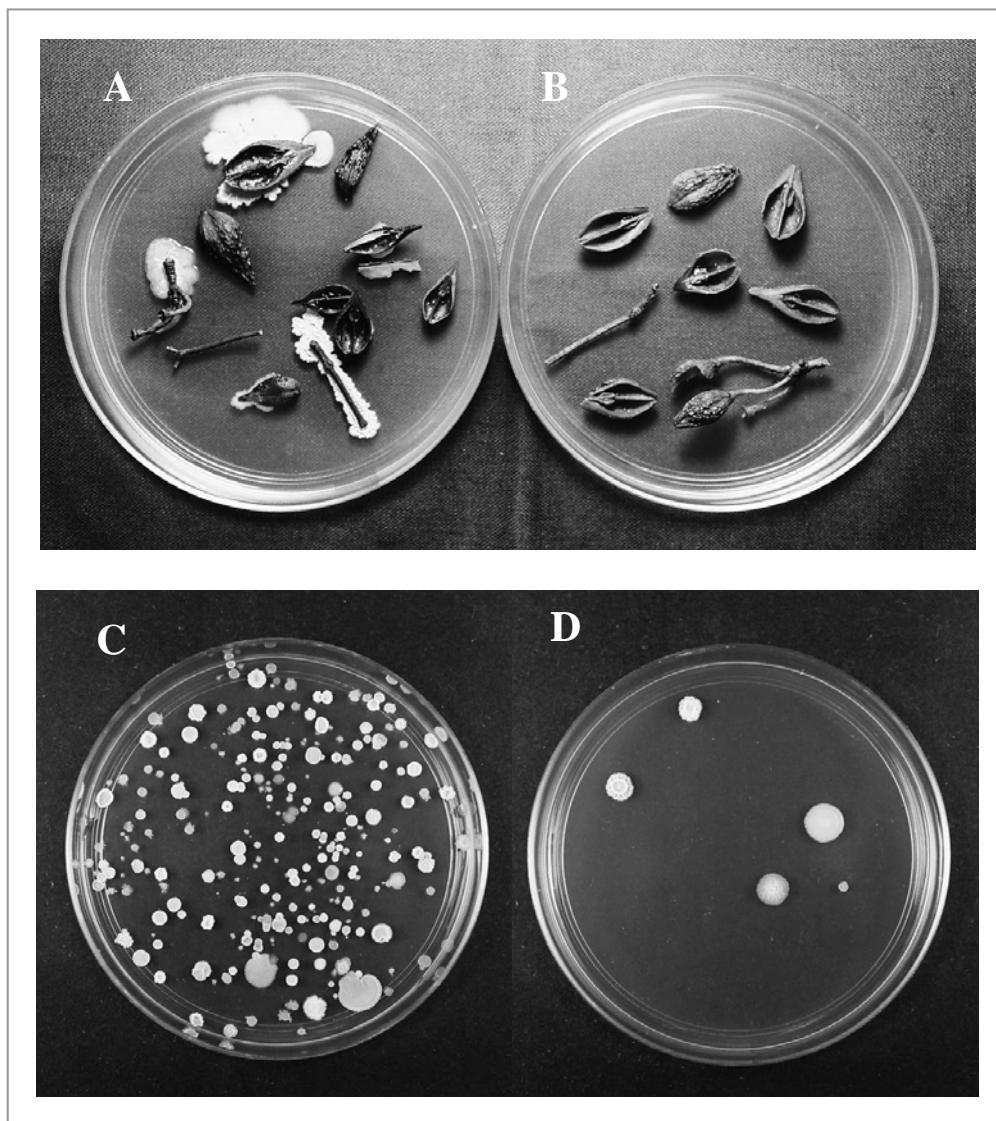
圖三 神麴樣品輻射滅菌：A、B 為不同批次未經照射之神麴樣品直接置於培養基上培養呈現微生物有極大差異；C、D 為樣品 B 未經照射及經 8 kGy 照射樣品經  $10^5$  倍及 10 倍稀釋後之浸液塗抹於培養基上培養 2 天後，有大量微生物生長，且菌相單存，經 8 kGy 照射後明顯菌數減少。



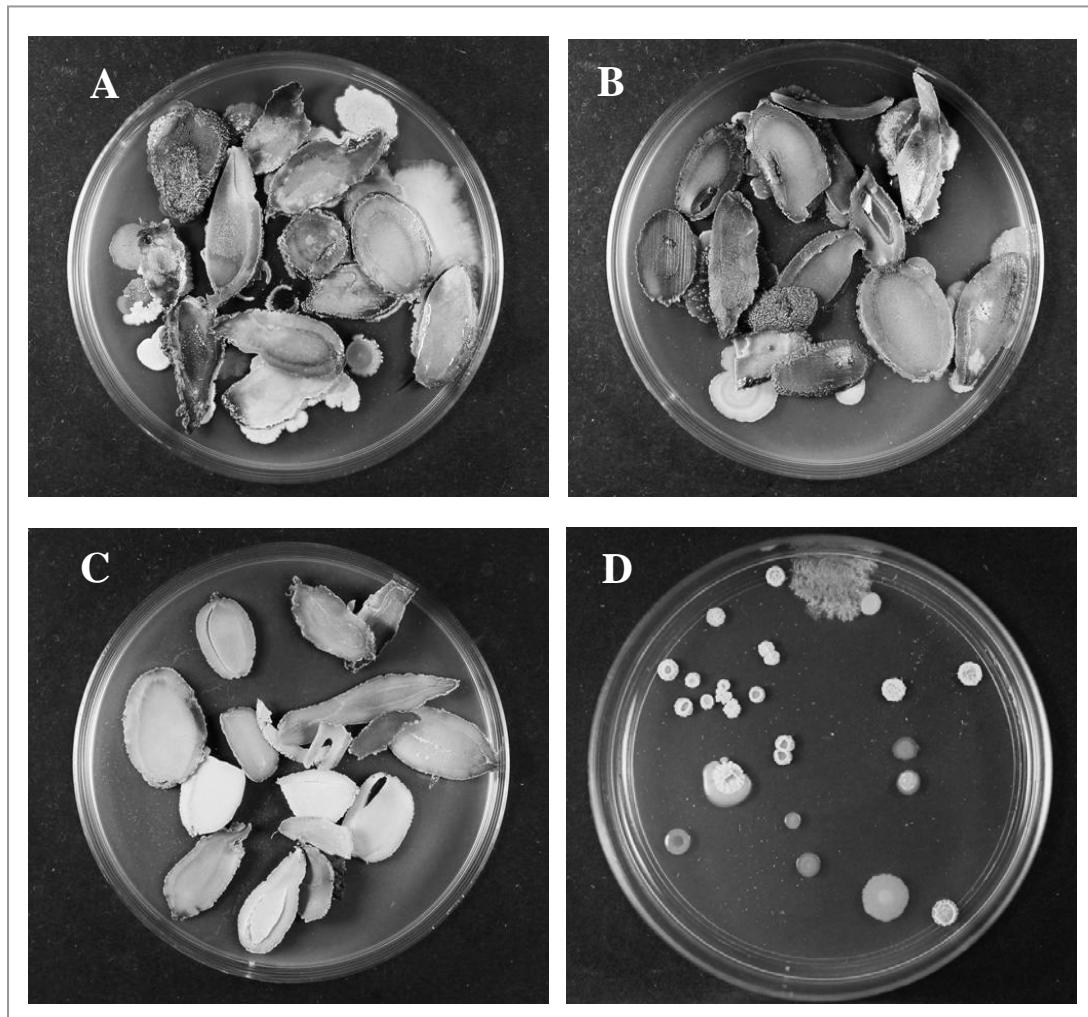
圖四 A 為未經照射、B 為經 12 kGy 照射後，將蒼朮樣品直接置於 TSA 平面培養基上培養 2 天所呈現之微生物相，經照射樣品已完全無菌生長。



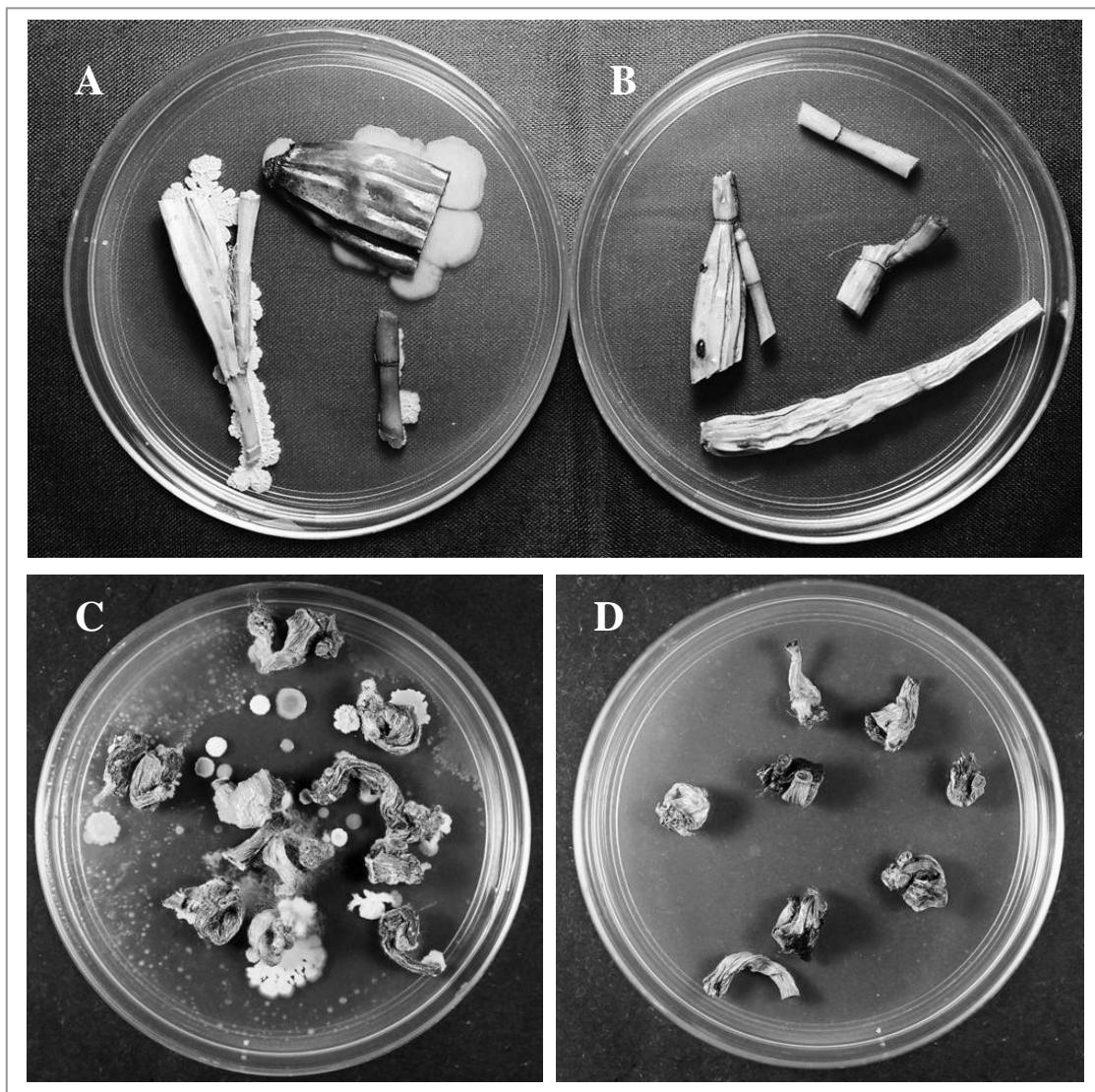
圖五 A 為未經照射、B 為經 10 kGy 照射後，將蒼朮樣品直接置於 TSA 平面培養基上培養 2 天所呈現之微生物相，經照射樣品已完全無菌生長。



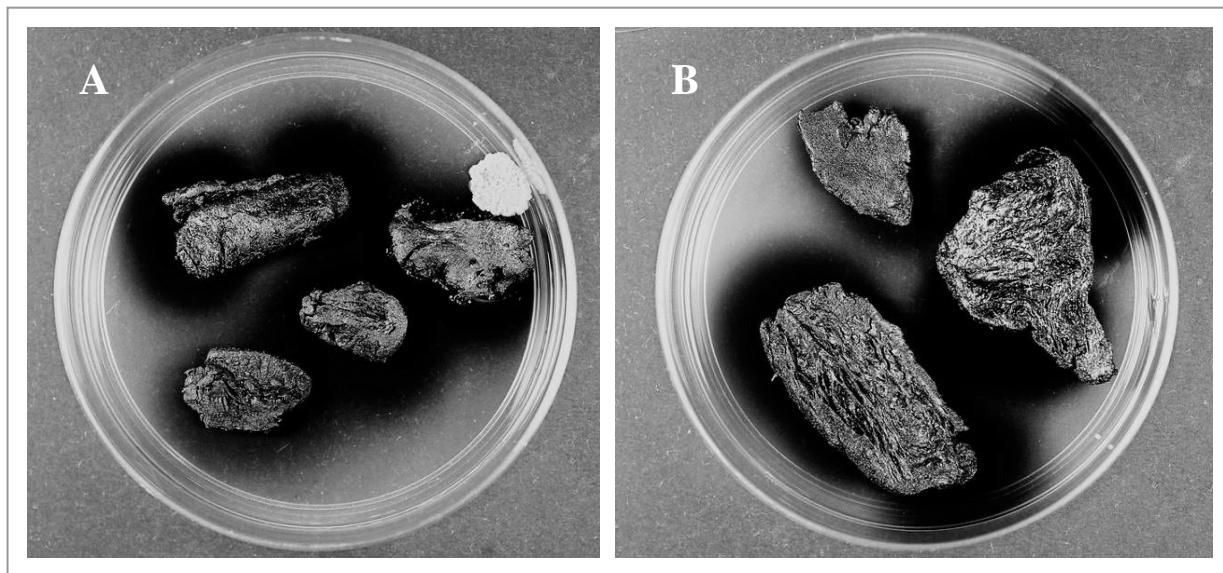
圖六 連翹樣品輻射滅菌：A 為未經照射及 B 為經 8 kGy 照射之連翹樣品直接置於培養基上培養；C、D 為未經照射及經 4 kGy 照射樣品經 100 倍稀釋後之浸液塗抹於培養基上培養 2 天後之微生物相。其 C 圖中未經照射樣品有大量微生物生長，而 D 圖中照射後樣品中殘存菌數明顯減少。



圖七 鬱金輻射滅菌：A 為未經照射、B、C 為經 2、6 kGy 照射後，將鬱金樣品直接置於 TSA 平面培養基上培養 2 天所呈現之微生物相；D 為未經照射樣品經 25 倍稀釋後之浸液塗抹於培養基上培養 2 天後之微生物相。



圖八 石斛樣品輻射滅菌：A、B 為金釵石斛分別未經照射及經 4 kGy 照射之樣品，直接置於培養基上培養 2 天；C、D 為霍山石斛分別未經照射及經 12 kGy 照射樣品，直接置於培養基上培養 2 天所呈現之微生物相。霍山石斛所需之滅菌劑量較高。



圖九 黃精樣品輻射滅菌：A、B 為黃精分別未經照射及經 2 kGy 照射之樣品，  
直接置於培養基上培養 2 天所呈現之微生物相。

表一、中藥材經加馬線照射後之殘存微生物量(CFU/g)

樣 品	編 號	照 射 劑 量						
		0 kGy	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy	12 kGy
冬蟲夏草	I <sup>a</sup>	1.80x10 <sup>4</sup> <sup>b</sup>	2.10x10 <sup>3</sup>	1.01x10 <sup>3</sup>	8.21 x10 <sup>2</sup>	0	- <sup>c</sup>	-
	II	1.77 x10 <sup>6</sup>	4.96 x10 <sup>4</sup>	1.26 x10 <sup>4</sup>	8.45 x10 <sup>2</sup>	8.13 x10 <sup>1</sup>	<10	-
	III	8.60 x10 <sup>5</sup>	1.29 x10 <sup>5</sup>	1.43 x10 <sup>3</sup>	2.33 x10 <sup>2</sup>	6.80 x10 <sup>1</sup>	0	0
	IV	7.25 x10 <sup>4</sup>	-	9.06 x10 <sup>1</sup>	-	3.60 x10 <sup>1</sup>	<10	<10
	V	4.60 x10 <sup>4</sup>	2.90 x10 <sup>3</sup>	4.00 x10 <sup>2</sup>	1.39 x10 <sup>2</sup>	<10	<10	0
神 魏	I	3.86 x10 <sup>4</sup>	4.10 x10 <sup>3</sup>	1.29 x10 <sup>2</sup>	0	-	-	-
	II	7.68 x10 <sup>7</sup>	TNTC <sup>d</sup>	5.62 x10 <sup>5</sup>	1.30 x10 <sup>4</sup>	1.83 x10 <sup>2</sup>	0	-
	III	9.75 x10 <sup>4</sup>	TNTC	5.57 x10 <sup>2</sup>	<10	<10	0	-
	IV	3.20 x10 <sup>7</sup>	3.00 x10 <sup>6</sup>	6.86 x10 <sup>4</sup>	3.67 x10 <sup>2</sup>	0	0	-
	V	4.76 x10 <sup>5</sup>	4.23 x10 <sup>4</sup>	2.39 x10 <sup>3</sup>	1.98 x10 <sup>2</sup>	0	0	-
蒼 杈	I	2.49 x10 <sup>4</sup>	1.69 x10 <sup>3</sup>	5.97 x10 <sup>2</sup>	1.79 x10 <sup>2</sup>	1.02 x10 <sup>2</sup>	2.84 x10 <sup>1</sup>	0
	II	1.19 x10 <sup>3</sup>	5.98 x10 <sup>2</sup>	7.80 x10 <sup>1</sup>	5.80 x10 <sup>1</sup>	0	0	0
	III	2.68 x10 <sup>3</sup>	1.08 x10 <sup>3</sup>	5.80 x10 <sup>1</sup>	5.53 x10 <sup>1</sup>	1.46 x10 <sup>1</sup>	0	0
	IV	2.24 x10 <sup>3</sup>	2.10 x10 <sup>2</sup>	1.10 x10 <sup>2</sup>	0	0	0	-
	V	2.07 x10 <sup>3</sup>	2.88 x10 <sup>2</sup>	<10	0	0	0	-
酸棗仁	I	1.93 x10 <sup>6</sup>	6.88 x10 <sup>2</sup>	5.26 x10 <sup>4</sup>	2.81 x10 <sup>3</sup>	7.18 x10 <sup>1</sup>	4.43 x10 <sup>1</sup>	0
	II	1.49 x10 <sup>4</sup>	7.53 x10 <sup>2</sup>	4.41 x10 <sup>2</sup>	6.00 x10 <sup>1</sup>	0	0	-
	III	6.00 x10 <sup>4</sup>	3.00 x10 <sup>2</sup>	4.00 x10 <sup>1</sup>	2.00 x10 <sup>1</sup>	<10	0	0
	IV	6.13 x10 <sup>5</sup>	6.69 x10 <sup>3</sup>	2.12 x10 <sup>3</sup>	<10	-	0	0
	V	6.80 x10 <sup>2</sup>	7.38 x10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	-

<sup>a</sup> 編號分別表五個不同地區所採集之樣品<sup>b</sup> 三重複測試之平均值<sup>c</sup>- 表未受測<sup>d</sup> Too numerous to count (TNTC)：菌落太多無法計數

表二、中藥材經加馬線照射後之殘存微生物量(CFU/g)

樣品	編號	照射劑量						
		0 kGy	2 kGy	4 kGy	6 kGy	8 kGy	10 kGy	12 kGy
連翹	I <sup>a</sup>	9.40 x10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	1.50 x10 <sup>2</sup>	4.87 x10 <sup>1</sup>	0	0	- <sup>c</sup>	-
	II	2.53 x10 <sup>4</sup>	1.55 x10 <sup>4</sup>	7.03 x10 <sup>2</sup>	<10	0	-	-
	III	1.72 x10 <sup>3</sup>	3.22 x10 <sup>2</sup>	3.00 x10 <sup>1</sup>	0	0	0	-
	IV	2.68 x10 <sup>3</sup>	<10	0	0	-	-	-
	V	5.98 x10 <sup>4</sup>	5.94 x10 <sup>3</sup>	1.65 x10 <sup>2</sup>	<10	0	-	-
鬱金	I	1.67 x10 <sup>1</sup>	<10	0	0	-	-	-
	II	1.17 x10 <sup>2</sup>	0	0	0	-	-	-
	III	1.15 x10 <sup>2</sup>	3.30 x10 <sup>1</sup>	<10	0	-	-	-
	IV	7.49 x10 <sup>3</sup>	6.58 x10 <sup>1</sup>	<10	0	0	-	-
	V	2.47 x10 <sup>3</sup>	2.69 x10 <sup>2</sup>	5.17 x10 <sup>1</sup>	<10	0	-	-
石斛	I	6.57 x10 <sup>3</sup>	1.63 x10 <sup>2</sup>	0	0	-	-	-
	II	3.63 x10 <sup>2</sup>	6.31 x10 <sup>1</sup>	1.13 x10 <sup>1</sup>	<10	0	0	-
	III	2.05 x10 <sup>5</sup>	4.71 x10 <sup>2</sup>	<10	0	0	0	-
	IV	2.54 x10 <sup>6</sup>	9.54 x10 <sup>4</sup>	5.87 x10 <sup>3</sup>	7.08 x10 <sup>2</sup>	5.59 x10 <sup>1</sup>	<10	0
	V	1.71 x10 <sup>5</sup>	1.06 x10 <sup>4</sup>	4.47 x10 <sup>3</sup>	1.64 x10 <sup>1</sup>	2.53 x10 <sup>1</sup>	<10	0
黃精	I	2.70 x10 <sup>2</sup>	7.73 x10 <sup>1</sup>	<10	0	0	-	-
	II	6.76 x10 <sup>2</sup>	3.20 x10 <sup>1</sup>	0	0	0	-	-
	III	6.29 x10 <sup>2</sup>	<10	<10	0	-	-	-
	IV	4.31 x10 <sup>2</sup>	<10	0	0	0	-	-
	V	2.59 x10 <sup>2</sup>	<10	0	0	0	-	-

<sup>a</sup> 編號分別表五個不同地區所採集之樣品<sup>b</sup> 三重複測試之平均值<sup>c</sup> 表未受測

表三、樣品經加馬照射後以 VRBGA 培養基測出之腸內菌含量(CFU/g)

中藥材	腸內菌數	滅菌劑量
冬蟲夏草	$10^2 \sim 10^4$	4kGy
酸棗仁	$10^3 \sim 10^4$	4kGy
蒼朮	$10^2 \sim 10^3$	2kGy

表四

中藥材	黴菌及酵母菌菌數	滅菌劑量
冬蟲夏草	$10^3 \sim 10^4$	6kGy
石斛	$10^3 \sim 10^4$	6kGy
蒼朮	$10^1 \sim 10^4$	6kGy
酸棗仁	$10^3 \sim 10^4$	4kGy
連翹	$<10^2$	4kGy
神麴	$10^2 \sim 10^3$	2kGy
鬱金	$<10$	2kGy
黃精	0	0

表五、酸棗仁經不同處理後其顏色之 Hunter L. a. b. 值

編號	Treatment	L.	a.	b.
I	0 kGy	26.00±0.47 <sup>a</sup>	11.15±0.76	8.38±0.44
	10 kGy	25.94±0.38	10.09±0.32	7.45±0.23
II	0 kGy	25.00±0.78	7.63±0.43	6.64±0.39
	12 kGy	24.77±0.59	7.58±0.16	6.44±0.40

<sup>a</sup> 數據均為四重複測試之平均值

表六、冬蟲夏草、蒼朮以 HPLC 分析中藥於照射前、後之指標成份變化

指標成份	編號	單位重量樣品之含量 (mg/g)	
		未經照射	14 kGy 照射
Adenosine free base	I	0.261	0.246
	II	0.269	0.258
	III	0.281	0.267
Ave. a		0.270±0.010	0.257±0.011
指標成份	編號	未經照射	12 kGy 照射
$\beta$ -Eudesmol	I	10.46	10.21
	II	10.14	9.92
	III	10.18	9.45
	IV	10.41	9.85
	V	10.87	10.11
	VI	10.06	10.03
Ave. <sup>b</sup>		10.35±0.30	9.93±0.27

<sup>a</sup> Ave. 表示三重複之平均值<sup>b</sup> Ave. 表示六重複之平均值