

計畫編號：CCMP92-RD-038

四種常用中藥材輻射滅菌後 對其療效指標成分的影響研究

陳家杰

行政院原子能委員會核能研究所

摘要

本省地區屬潮濕高溫的氣候，中藥材的保存不易，常有長霉生蟲的問題發生。以鈷六十 γ 射線照射來滅菌的方法，因快速及滅菌效果佳，受到中藥業者採用。以 γ 射線照射滅菌後，大多只注意滅菌殺蟲效果，對 γ 射線之不同照射劑量，是否會破壞中藥材有效成分，或影響中藥材貯存之安定性，則較少探討。

目前 γ 射線照射劑量，世界各國大多以 10 kGy 為最多，照射劑量規定最高者為美國 FDA 所定之 30 kGy。因此，就法定照射劑量來實驗四種常用中藥材，具有療效指標成分；以四種照射劑量照射後，評估鈷六十 γ 射線照射不同劑量後，對實驗中藥材樣本是否影響其療效成分估評估。

本實驗以白芍藥、甘草、西洋參、冬蟲夏草為實驗樣本分別照射 10, 15, 20, 30 kGy 之 γ 射線劑量後，就其具療效之指標成分（甘草：Glycyrrhizin，西洋參：Ginsenoside Rb1, Rg1，白芍藥：Paeoniflorin，冬蟲夏草：Adenosin）以 HPLC 加以分析、比較照射前後其指標成分含量是否改變，評估是否會影響中藥材之療效成分，並檢測四種照射劑量之滅菌效果。

本實驗結果發現，輻射滅菌劑量在 10 kGy 以上，即可有效控制所有的微生物污染問題。甘草雖然在 10 kGy 時還有少量的微生物污染，但量已減得很小，稍微提高劑量即可控制；至於指標成分上，甘草及芍藥在照射後指標成分變化稍大，而西洋參則隨劑量增大有下降之趨勢，至於冬蟲夏草對放射線則沒有影響，其指標成分下降幅度不高，對療效之影響不會太大。

由於樣品完全由市場取得，樣品之批次和統一性恐有誤差，故建議往後之

相關實驗，以療效成分為主要研究對象，以減輕取樣來源之不確定性。

關鍵詞：輻射滅菌、輻射殺蟲、加馬照射

CCMP92-RD-038

Research on The Influence of Curative Target Ingredients for Four Kinds of Commonly Used Traditional Chinese Medicine After Radiation Sterilization

CHIA-CHIEH CHEN

INSTITUTE OF NUCLEAR ENERGY RESEARCH ROCAEC

Abstract

The weather of Taiwan is hot and humid. The humidity and warm temperature often cause problems of growing mildew and rod. It is hard to preserve the traditional Chinese medicines (TCM). The method of using γ -ray to destroy microorganisms is easy, rapid and effective. Therefore, the radiation of γ -ray is broadly used by the TCM industry. However, people by γ -ray mostly noticed the effect of destroying microorganisms instead of noticing the effectiveness of the TCM be preserved.

This experiment take *Paeonia lactiflora*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Panax quinquefolium* and *Cordyceps sinensis* as samples and individually radiated by 10, 15, 20, and 30 kGy dosage of γ -ray. As far as its curative marker constituents as concerned (*Paeonia lactiflora*: paeoniflorin; *Glycyrrhiza uralensis*: glycyrrhizin; *Panax quinquefolium*: ginsenoside Rb1, Rg1, *Cordyceps sinensis*: Cordycepin) be analyzed and compared with HPLC to see if its former and later target marker constituents change or not to evaluate it will influence the curative marker constituents of TCM, and test the microorganisms destroying effect by four radiated dose.

From the results we can see that the dose at 10 kGy wil be enough to clean most of the biological contamination. *Glycyrrhiza uralensis* even still has little

microorganism contamination, the bioburden is already small and a little more dose can clean all of them. For the markers, it is found that different herb medicines have different response to the radiation.

From the results above we can see that even radiation is effect to controll the bioburden of herb medicines, and even the radiation is safe for all the foods, the changes of curing effect after radiation will be very important. All the Chinese herb medicines should double check the radiation effects on their curing elements before radiation treatment.

Since all materials are collected from market. It is not easy to control all the samples from the same batch. So for the next experiment, it is suggested that by using the curing elements will have better results.

Keywords: γ -ray, traditional Chinese medicines, stability

壹、前言

中藥的使用在中國已有數千年歷史，且歷久不衰，尤其最近歐美等先進國家對中藥的使用也蔚為風氣，民眾對中藥的喜愛和信賴已無庸置疑，其療效更獲得科學界的證實，而今「中醫現代化，中藥科學化」更是中醫界最大的盼望，期能藉此使民眾之用藥上更有保障，台灣地區每年從中國大陸進口的中藥材數量繁多，金額非常龐大，而國人對中藥的喜愛也越來越盛，中藥材的食用安全性更加重要，因此如何以科學的方法來促進中藥的安全應用乃是目前最重要的課題⁽¹⁻⁵⁾。

中藥最被人詬病的便是中藥材保存不易，容易受到細菌感染、發霉、生蟲及變質等，因此為了克服這些問題乃有滅菌法的使用，中藥材的殺蟲滅菌方法有傳統的藥劑殺菌法（如 EO, PO, 臭氧）及加熱滅菌法，但兩法都有其缺點，例如用藥劑殺菌，其滅菌成效及穿透性不佳，有些中藥材反會因而產生如氯醇等致癌的有毒物質，而用加熱殺菌法無法迅速殺滅孢子且穿透性差會破壞藥材的成份等嚴重問題。

為解決滅菌的問題乃有使用加馬射線滅菌的新方法出現，使用加馬射線可完全穿透藥材而達到殺蟲滅菌的效果，此法之衛生及安全性已獲美國食品藥物管理局（FDA）及世界衛生組織（WHO）核可⁽¹⁻⁵⁾。目前加馬射線劑量，世界各國規定由 4.5~30 kGy 都有，以 10 kGy 最多，照射劑量規定最高者則為美國 FDA 所定之 30 kGy⁽¹⁻⁵⁾。

以加馬射線照射滅菌後，大多數業者及學者，都只注意滅菌殺蟲效果，對加馬射線之不同照射劑量，是否會破壞中藥材有效成分，則較少被探討。

輻射滅菌法係利用游離輻射線的游離輻射破壞生物體的 DNA，使微生物、害蟲等因生理活動遭到改變而死亡，以達殺蟲滅菌的目的⁽⁶⁾，由於輻射滅菌依規定只能使用鈷 60、銫 137 的加馬射線或 5MeV 以下 X 光線 10MeV 以下電子束，不會使被照射物產生放射性，故不會有產生放射線物質與放射線殘留的疑慮，此法為目前最安全的滅菌消毒法，國外研究也相當多^(7,8,9)。

輻射照射在國內已有十多年的歷史，目前亦已大量運用在醫材、抗生素的滅菌照射及食品保鮮照射，在國內對食品滅菌照射已為合法的項目⁽¹⁰⁾，中草藥的照射，國外如美國英國等都是合法的項目⁽¹¹⁾；中國大陸已有研究報告^(11,12,13,14,16)亦已是合法。國內近年已建立照射經驗，正積極推動中藥照射合法化作業中。經濟部第六次科技會議也已把中草藥輻射滅菌定為重點討論項目之一，故本計畫為配合國內外對白芍藥、甘草、西洋參、冬蟲夏草的需求，提昇國內競爭力，

特提出輻射殺蟲滅菌法。

核能研究所於前年與高雄市立中醫醫院，針對中藥材使用鈷六十 γ 射線照射後有良好的殺蟲滅菌效果。並對中藥材樣本在照射 10 kGy 之劑量後，對具療效之指標成分，以 HPLC 檢測，並沒有明顯改變。但此研究僅做 10 kGy 之劑量，也沒有較深入的探討。

中草藥材在進行輻射滅菌上，所必須考慮的問題有 1. 成品之總載菌量，此將決定所用的劑量大小，因在照射處理中，劑量大小不但影響其成本同時也會影響其品質，最好的照射設計為以載菌量大小和滅菌保證度的大小來決定最低照射劑量⁽⁶⁾，即載菌越多照射劑量越大，滅菌保證度要求越高劑量也越高；2. 化學成分的穩定度，被照射物的有效成分，在照射後的分解率，決定滅菌照射的最高允許劑量，即有效成分越穩定照射劑量可越高，照射可達到的滅菌度將越高⁽¹⁾，另外，被照射物的病源菌含量也需注意，一般無須要求無菌的成品中，對病源菌的控制則成最重要的目標；3. 商業品質的確保，任何有效的處理，若影響到商業品質，使其喪失購買價值，則一切處理皆無意義，被照射物若其顏色或軟硬度在貯存期遭受影響，即沒有照射的必要，故在照射時，一定要兼顧其商業品質才有照射的意義，本實驗在發展照射技術時已兼顧主要成份及商業品質，並隨時檢討改進其食用價值。

本研究之目的在探討中藥材使用 γ 射線滅菌之安全性及有效性，確保中藥材在照射適當劑量後，HPLC 之定量，來對照照射前及照射後其指標成份是否有所改變，由此可初步明瞭，中藥材經鈷六十加馬射線在 30 kGy 以下之劑量照射後，其化學成分是否會有所變化而影響到中藥材的藥效及保存期限。對台灣地區每年有二百多億市場之中藥材之品質與療效之保障應做一評估。

本計劃的實施，將以核能研究所和高雄市立中醫醫院及春生堂科學中藥廠合作的方式，進行技術及醫界共同合作，整合上中下游的方式，解決上述四種中草藥品質之問題。核研所負責照射及微生物^(10,17)分析等實驗，高雄中醫醫院春生堂科學中藥廠則負責藥材基源鑑定療效或指標成分分析及商業品質的判定並探討病患接受度等，務求一次解決上述四種中草藥品質問題，搶先進入市場以造福國人並提高其國際競爭力。

貳、材料與方法

一、鈷六十之加馬射線照射

1. 將待照射之中藥材及指標成分包裝好密封。
2. 置於旋轉台上加馬射線射源 80 公分照射高度與射源棒高度一樣 (30 公分)。
3. 以實際照射時間換算出加馬射線之照射劑量。

經核研所同位素應用組加馬射線照射廠實際測得的加馬射線每小時劑量為 0.86 kGy，而本實驗之中藥材照射劑量為 10, 15, 20, 30 kGy，可計算出照射時間如下：

$$\begin{aligned}10 \text{ kGy} &= \frac{10}{0.86} = 11.63 \text{ 小時} \\15 \text{ kGy} &= \frac{15}{0.86} = 17.44 \text{ 小時} \\20 \text{ kGy} &= \frac{20}{0.86} = 23.26 \text{ 小時} \\30 \text{ kGy} &= \frac{30}{0.86} = 34.89 \text{ 小時}\end{aligned}$$

實驗之各中藥材樣本用 Radiochromic film 確定實際照射之劑量。

二、微生物檢測

1. 將 40g 的 CASO-Agar 溶於 1 公升的水中，煮沸後以高壓蒸汽鍋在 121 °C 下，滅菌 15 分鐘，作為培養基待用。
2. 照射四種 γ 射線劑量前後之微生物檢測，以連續稀釋瓊脂傾注平板法及傾注平板法來定量微生物之污染與否。
3. 檢測病原菌的項目含金黃色葡萄球菌、沙門氏桿菌。
4. 中藥材指標成分之分析條件

三、以 HPLC 分析四種照射劑量後三種中藥材具療效指標成分之變化形

1. 甘草 : Glycyrrhizin

Column : Merck 50734 Lichro CART® RP-18 (e), 4×125mm; 5 μ m

Column temperature : room temperature

移動相 : 稀醋酸 (1→15) : Acetonitrile = 67 : 33

流速：0.5ml/min

檢出波長：UV 254nm

注入量：10μl

2. 西洋參：Ginsenoside Rg1

Column : Merck 50734 Lichrospher RP-18 (e), 4×125mm; 5 μm

Column temperature : room temperature

移動相：水：氯甲烷=78：22

流速：1.0 ml/min

檢出波長：UV 203nm

注入量：5 ml

3. 白芍藥：Paeoniflorin

Column : Merck 50734 Lichro CART® RP-18 (e), 4×125mm; 5 μm

Column temperature : room temperature

移動相：H₂O：Acetonitrile=9：1

流速：1.0 ml/min

檢出波長：UV 230 nm

注入量：10μl

4. 冬蟲夏草：Adenosin

冬蟲夏草的分析條件

Column:Merck 50734 Lichrosphere RP-18, 4X125mm; 5 μ m

Column temperature:room temperature

移動相：0.01M 磷酸氫二鉀 + 0.01M 磷酸二氫鉀 (pH=6.5) : 甲醇=95:5

檢出波長：UV254nm

流速：0.5ml/min

注入量：10ml

參、結果

微生物照射方面可以看出經照射 10 kGy 以後，除了甘草以外所有的其餘三種中藥其微生物皆已消失，而甘草於照射 20 kGy 以後也沒有微生物會產生，對甘草而言雖然在 10 kGy 時尚有微生物殘存，量也減至極小，故即使尚未完全滅菌，其含菌量也改善了很多，對其品質之提升也有一定之效果。

另外在沙門氏菌及葡萄球菌方面，此次檢驗並沒有在任何照射組發現有此二病原菌之污染；未照射組方面，本次分別進行數次重複之檢驗，其中發現有沙門氏菌感染的只有少數的冬蟲夏草有稍受污染，而金黃色葡萄球菌方面，只有一次檢驗之芍藥中發現，此證明中草藥有可能帶有相關之病原菌，其數目雖不多但對人體健康還是有些威脅，在所有照射過之中藥則沒有任何發現，可見輻射滅菌在消除病原菌上其功能應該受到肯定。

在照射後之 HPLC 分析結果如下：

1. 對甘草之指標成分 Glycyrrhizin 進行照射後之分析，由表中可以看出照射後 Glycyrrhizin 指標成分稍有明顯的下降趨勢，對照射劑量之影響很小，照射結果無論是 10 kGy 或 30 kGy，Glycyrrhizin 的減少量一樣，其變化範圍不大，應該比不同批次量之變化小，由微生物的照射劑量可以看出，照射至 10 kGy 可發現少量之微生物，故在甘草品管上宜先控制其微生物之含量，不必考慮對其成分之影響。
2. 冬蟲夏草照射後以指標成分 Adenosine 進行 HPLC 之分析，結果發現冬蟲夏草對輻射線之抗性相當高，照射過隻蟲體其指標成分之變化不顯著，此結果對冬蟲夏草進行輻射滅菌相當肯定，即對於冬蟲夏草若要進行相關之滅菌處理，以控制其微生物之含量，輻射滅菌將是相當好的一個選擇。
3. 芍藥照射方面則和甘草類似，只要經過照射處理其指標成分 Paeoniflorine 有一些減少現象，芍藥在微生物照射方面稍微比甘草要樂觀，10 kGy 即可控制住微生物之量而達到滅菌之成效，其指標成分之減少雖然可以看出，也比批次不同所生之變異要少，故相同於甘草，對芍藥最好是在前處理時即設法控制微生物含量。
4. 西洋參照射方面，對其指標成分 Rg1 之影響和上面三中藥成分不一樣，其 Rg1 指標成分隨著照射劑量之增加而相對的稍有減少之現象，由於西洋參自美國等西方國家進口，前處理即微生物含量方面也較嚴謹，故含菌量理論上要比一般從大陸等之開發中地區要少得多，故照射之劑量應該較低；人參時常被用來口含或泡茶，對其微生物品管要特別注意。

肆、討論

輻射滅菌為中草藥微生物品管可行的有效辦法，目前中國大陸已完全合法化並進行例行的照射，但中國大陸在施行照射滅菌後並未進行標誌等告知行為，國內進口中藥時又碰到溼熱環境易遭蟲害生蟲等污染，對控制其品質相當頭痛，本研究顯示出所有中藥及其指標成分對照射的反應相當好，其中甘草、芍藥之變化稍大，而冬蟲夏草則幾乎沒有任何變化，西洋參則介於二者之間，故在進行照射時對微生物控制宜考慮照射之劑量，儘可能減少微生物以確保其品質。中藥廠進行中藥照射時，宜掌控其微生物品質。

伍、結論與建議

中藥照射為國內新興的一個中藥微生物品控方式。每個藥廠多少都嘗試過照射滅菌法以品控其科學中藥品質，由於照射後的安全顧慮已由聯合國 IAEA、WHO、FAO 等組織證明不會產生毒物，可安全食用。在有效成分減少方面可能會影響藥效，影響到其治病效果，故藥廠對任何中藥，在進口時宜注意其是否已經過照射處理，或自行照射時亦應該注意微生物之含量以決定照射劑量，以確保食用中藥之品質。

中藥照射時，對含水量之變化宜加以掌控，由於水分經照射後會產生很多的自由基，對劑量將有加成效果，為控制療效成分之恆定性，宜多加考慮。

另外照射後之微生物，其生物相固然有所改變，此為所有關心輻射滅菌者所關心—憂慮萬一有致病突變種產生。科學證實所有滅菌行為，如高熱、毒氣等皆有產生突變的機率，由於輻射的傷害所產生的突變，其生物活性因為受傷顯得相當弱，在競爭上要比一般微生物弱，大部分無法生存。綜合各國輻照報告，照射物在實驗室進行無數次照射研究及每年大量的食品照射、動物飼料照射結果及相關之安全實驗，數十年來並沒有任何有害突變產生，故不用擔心。篩選突變研究者，主要是設計出篩選突變種所必須做的特別安排，才有機會讓突變種遠離野生種的競爭，在單一環境下，以最佳環境培養栽培篩選，以機率論，在自然界是很難得發生的。

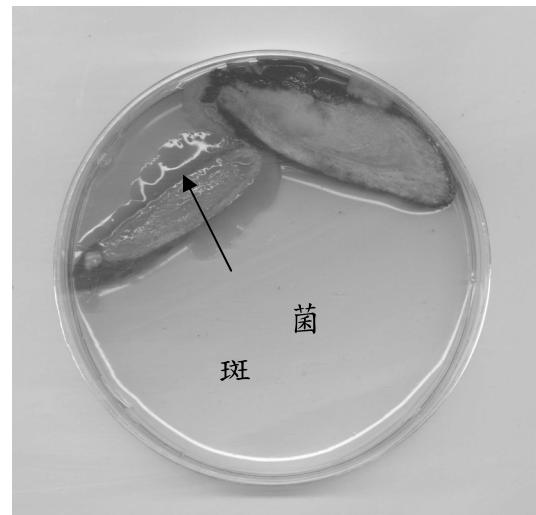
陸、參考文獻

1. 陳家杰 (1999) 中藥材輻射滅菌之應用,核研季刊, 31 : 57-60。
2. 向大雄, 趙緒元 (1994) 鈷 60 輻射滅菌在中成藥中的應用, 時診國藥研究, 中國黃石廿, 35-37 向大雄, 趙緒元 (1994) 鈷 60 輻射滅菌在中成藥中的應用, 時診國藥研究, 中國黃石, 35-37。
3. Fei Xu.(1992)Pharmaceutical studies of submerged culture of *Cordyceps mycetina* in China. Chinese Pharmaceutical Journal. 27(4): 195-197.
4. Yongquan Wu, (1989) Chinese Journal of Infectious Diseases. 7(2):117.
5. 蔡瑞燦 (1997) 藥物的輻射滅菌,核研季刊, 25 : 2-7。
6. 陳家杰 (2001) 輻射在食品保存之應用, 食品工業, 33 (2), 11-16。
7. 張志豪, 魏金戈 (2001) 台灣輻射照射應用現況, 食品工業, 33 (2), 17-19。
8. Warke R.G., Kamat A. S., Kamat M. Y.(1999). Irradiation of chewable tobacco mixes for improvement in microbiological quality. J. Food Prot. 62(6): 678-681.
9. Singh L., Mohan M. S., Sankarann R., and Sharma T.R.,(1998). The use of gamma irradiation for improving qualities of spices. J. Foods Sci. Technol 25,357-360.
10. 吳家駒, 錢明賽(2001)食品照射法規之發展現況, 食品工業, 33 (2), 1-10。
11. 李耀雄 (1994) 黃連上清丸用 γ 射線輻射滅菌效果即對藥物活性之影響, 山西中藥, 10, 43-44。
12. 任延軍, 李松林 (1995) Co- γ 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, 31-32。
13. 周學優 (1995) 鈎藤 Co 輻照滅菌前後生物活性比較試驗, 中成藥, 中國上海, p45。
14. 陳金月 (1996) 鈷 60 γ 射線輻照滅菌對大黃主要成分的影響, 時珍國藥研究, 中國黃石, 154-155。
15. 劉希致 (1996) 川烏鈷六十 γ 射線輻照前後生物活性的研究, 中醫藥信息, 13 , 55。
16. 陳家杰, 連清宏 (1995) 工業用輻射劑量計簡介, 核研季刊, 12 , 69-75。
17. 陳家杰, 連清宏, (1995) 無菌測試標準操作手冊, INER-OM-0068。

柒、圖、表



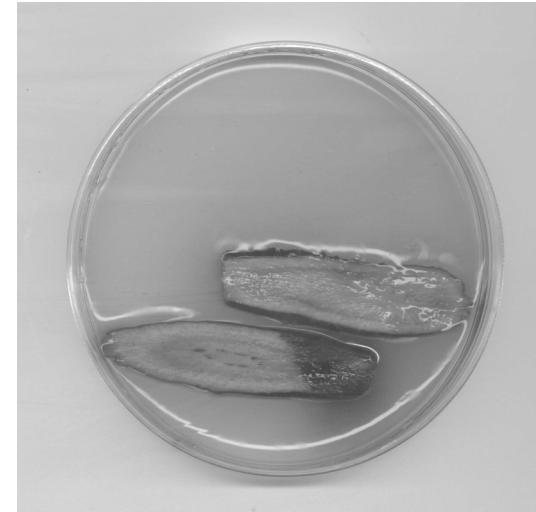
0 kGy



菌
斑

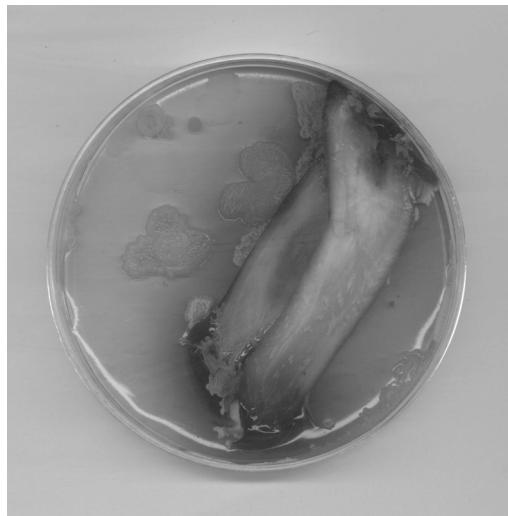


20 kGy



30 kGy

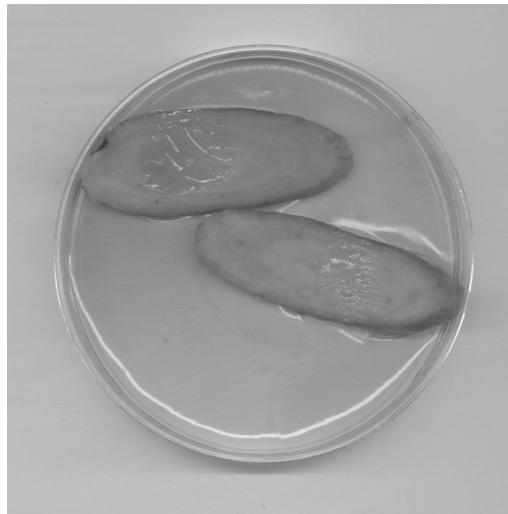
圖 1：甘草照射後菌檢結果



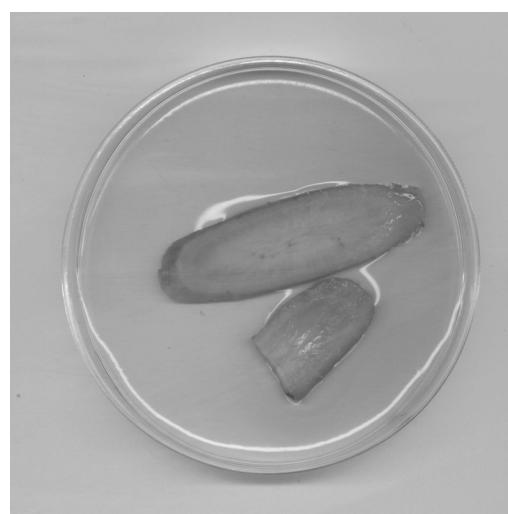
0 kGy



10 kGy



20 kGy



30 kGy

圖2：白芍藥照射後菌檢結果



0 kGy



10 kGy



20 kGy



30 kGy

圖三：西洋蔘照射後菌檢結果

表 1：甘草照射後指標成分 Glycyrrhizin 之變化結果

劑量 kGy	0	10	15	20	30
Glycyrrhizin (mg/g)	18.4±0.06	7.9±0.01	8.6±0.04	9.6±0.022	7.4±0.014

表 2：冬蟲夏草照射後指標成分 Adenosine 之變化結果

劑量 kGy	0	10	15	20	30
Adenosine (mg/g)	0.28±0.09	0.26±0.08	0.26±0.08	0.25±0.09	0.24±0.07

表 3：芍藥照射後指標成分 Paeoniflorine 之變化結果

劑量 kGy	0	10	15	20	30
Paeoniflorine (mg/g)	10.8±0.066	3.9±0.010	2.1±0.045	1.8±0.050	4.0±0.036

表 4：西洋參照射後指標成分 Rg1 之變化結果

劑量 kGy	0	10	15	20	30
Rg1 (mg/g)	19.1±0.03	17±0.07	16±0.06	12.4±0.08	11±0.01

表 5：照射後中草藥含菌變化表（每克含菌量）

劑量 kGy	0	10	15	20	30
白芍	2.1×10^2	0	0	0	0
西洋參	3.7×10^3	0	0	0	0
甘草	4.9×10^3	2.0×10	0	0	0
冬蟲夏草	3.9×10^4	0	0	0	0