

計畫編號：CCMP89-RD-045

各機關研究計畫基本資料庫之計畫編號：

行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫

中藥(材)加馬射線滅菌研究(2/3)

委託研究報告

計畫委託機關：國立清華大學 原科中心 同位素組

計畫主持人：周鳳英

研究人員：鍾曉萍、鍾仁傑

執行期間：88年7月1日至89年12月31日

編號：CCMP89-RD-045

行政院衛生署中醫藥委員會八十九年度委託研究計畫成果報告

## 中藥（材）加馬射線滅菌研究（2/3）

執行機構：國立清華大學 原科中心 同位素組

計畫主持人：周鳳英

研究人員：鍾曉萍、鍾仁傑

執行期限：88年7月1日至89年12月31日

\*\* 本研究報告僅供參考，不代表本會意見 \*\*

## 目錄

	頁碼
中文摘要.....	2
英文摘要.....	4
前言.....	6
材料與方法.....	7
結果.....	11
討論.....	16
結論與建議.....	17
參考文獻.....	19
圖目.....	23
圖次.....	26
表次.....	49
附件.....	55
自我評估表.....	58

## 中藥（材）加馬射線滅菌研究（2/3）

周鳳英

國立清華大學 原科中心 同位素組

### 摘要

中藥材因基原不同，成分品質有極大差異，其中微生物含量是直接影響中藥材品質者。本計畫為中藥材加馬線滅菌研究，研究結果將提供行政院衛生署中醫藥委員會作為研訂中藥材規格之參考依據。

計畫中選擇丹參、桔梗、杏仁、山楂、廣橘皮、麥門冬、浙貝母、茯苓、金銀花、白芷、白朮、貝母、五味子、百合、大黃十五種中藥建立中藥（材）以加馬線滅菌保存方法。輻射滅菌於清華大學原科中心同位素組三萬居里鈷六十照射熱室中進行照射。內容包括受測中藥材加馬線照射滅菌所需輻射劑量訂定，研訂中藥材加馬線滅菌的照射條件、建立加馬線滅菌照射技術，與輻射滅菌後之中藥材品評。

結果顯示，各樣品間之微生物種類及含量有極大不同，同一樣品因批次不同其微生物量亦有顯著差異。十五種中藥材中以杏仁、山楂、丹參、廣橘皮、金銀花、麥門冬、桔梗、茯苓之生菌數最高，單位重量菌數為  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g，經 8~10 kGy 劑量照射可達完全滅菌效果。白芷、百合、浙貝母、白朮、五味子、川貝母等次之，單位重量菌數為  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g，經 6 kGy 劑量照射可達完全滅菌。大黃為十五種中藥材中生菌數較低者，平均單位重量所含菌數低於  $10^2$  CFU/g，只需 4 kGy 照射即可達完全滅菌。上述十五種中藥材以所需最高輻射滅菌劑量照射後進行貯存試驗與官能

品評測試，結果顯示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，經1~7天後培養基及中藥材上均無微生物生長。此外，經照射之藥材其外觀品質與感官特性皆與未照射者無明顯差異。研究成果將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微生物污染含量管制之研訂參考，並進行照射後藥材之品評，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

## The Studies of Gamma-ray Sterilization of Chinese Medicinal Herbs (2/3)

F. I. Chou

Nuclear Science and Technology Development Center, National  
Tsing Hua University

### ABSTRACT

Since Chinese Medicinal Herbs (CMHs) originate from many different locations, there is a wide variety in the quality of components from the same species. Among many factors causing variety, the contamination of microbe is the major determination for the quality of CMHs. For improving the quality of CMHs, we aimed to establish a gamma-irradiated decontamination system from our study. This system can provide a reference basis to the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy of the Department of Health, the Executive Yuan, in order to set up laws and regulations for governing CMHs.

In this program, we studied the following fifteen CMHs: Salvia miltiorrhiza Radix, Platycodon grandiflorum, Prunus armeniaca, Crataegus cuneata, Citrus reticulata Blanco, Ophiopogon japonicus, Poria cocos, Lonicera japonica, Angelica dahurica, Atractylodes macrocephala, Fritillaria thunbergii Bulbus, Fritillaria cirrhosae Bulbus, Schisandrae fructus, Lilium brownii, and Rheum palmatum. In our research, the Irradiation took place at the 30,000 Curie cobalt-60 hot cell located at the National Tsing Hua University, Nuclear Science and Technology Development Center, Isotope Division. From 15 CMHs, we found out the effective gamma irradiation dose, established the proper irradiation conditions and techniques, and did the sensory tests for the

medicinal herbs before and after irradiation.

From our study, we found out that different species of CMHs have extreme diversity of the amount and species of microbe. Moreover, even the same species of CMHs also have a wide diversity of the amount and species for microbe. After studying the 15 CMHs, we separated them to three groups by the irradiation does. The first group has Prunus armeniaca, Salvia miltiorrhiza Radix, Platycodon grandiflorum, Crategus cuneata, Citrus reticulata Blanco, Ophiopogon japonicus, Poria cocos, and Lonicera japonica. The microbe contenting in them ranged from  $10^3\sim 10^4$ CFU/g, and the gamma irradiated decontamination does is 8 to 10 kGy. The second group has Angelica dahurica, Atractylodes macrocephala, Fritillaria thunbergii Bulbus, Fritillaria cirrhosae Bulbus, Schisandrae fructus, and Lilium brownii. The microbe contenting in them ranged from  $10^2\sim 10^3$ CFU/g, and the gamma irradiated decontamination does is 6 kGy. The third group is Rheum palmatum. The microbe in it was  $10^2$ CFU/g, and the gamma irradiated decontamination does is 4kGy.

After the gamma irradiation and then 3-month storage under room temperature, these 15 CMHs were incubated on the solid agar plates in order to observe the growth of microbes. During 7-day observation, no microbe appeared on any agar plate for each 15 CMHs. From this result, we can conclude that the gamma irradiation has high efficiency to sterilize microbe for CMHs. Besides sterilization, we also did the sensory tests for the 15 CMHs and there were no notable differences for the CMHs between before gamma irradiation and after gamma irradiation.

From our study, we can set up a gamma irradiation system for different species of CMHs. This system not only can provide a reference to the industries but also can supply government agencies with a basis for laws and regulations for the gamma-ray sterilization.

Key words : Chinese medicinal herbs, gamma-ray sterilization, microorganisms

## 壹、前言

中藥因基原不同，生長環境、農藥使用或包裝、貯存、運輸等人為影響，造成各地中藥（材）中微生物含量有極大差異。中藥材為華人常使用者，許多中藥材由中國大陸等地輸入台灣，經加工處理後轉銷世界各地。中藥材常因原產地之微生物，或因運輸、貯存環境中之微生物污染、腐敗而降低品質，適當的儲存對藥物的品質保持非常重要。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，因加馬射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，不須加熱或添加防腐劑等<sup>(1-5)</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，進行川烏經加馬線輻射照射前、後生物活性之影響、大黃經加馬線輻射滅菌後主成分之影響、黃蓮上清丸以加馬線滅菌之效果及對藥物活性之影響、鉤藤加馬輻射滅菌前、後生物活性比較試驗等研究，顯示其在中藥及成藥之輻射滅菌上有相當深入的研究與應用<sup>(6-15)</sup>。國內亦有、蝦粉、雞丁、牛肉粉、豬肉粉及大蒜等食物以輻射滅菌保存之研究<sup>(16-24)</sup>。世界各國對藥草之滅菌、滅蟲核可照射劑量如下：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>(25)</sup>。同時 FDA 也認為經低劑量照射之食品是安全的，不需毒性試驗。國外已有許多草藥及肉桂、豆蔻等香料與醫療用品、藥物（如抗生素等），及多項牛肉、果泥、菇類食品、及中藥材進行輻射照射滅菌之研究<sup>(26-33)</sup>。我們已對部分中藥材及花粉之輻射滅菌及食品微生物之輻射抗性進行



探討，輻射照射對人參、枸杞等中藥材與花粉等健康食品具有良好的滅菌效果<sup>(16-17, 20, 34-35)</sup>。國內已有大量中藥材如甘草、冬蟲夏草、人參、中藥調理包、銀杏、中藥粉、七葉膽等進行輻射滅菌(附件一)，國內科學中藥年產值達數十億元，在本省高溫多濕的環境中易受微生物所腐蝕，若能於完善包裝後進行輻射滅菌，將可延長商品時間及較長藥效。而進口中藥材多數添加防腐物質處理，如硫磺燻蒸、硼砂浸泡等，除會影響中藥材之品質外更會對人體造成毒性。

本計畫配合行政院衛生署中醫藥委員會八十九年度中醫藥研究發展重點項目五:中藥品質管制研究(5-3:中藥微生物污染管制研究)提出。計畫目的為對丹參、桔梗、杏仁、白芷、山楂、白朮、廣橘皮、麥門冬、浙貝母、茯苓、金銀花、貝母、五味子、大黃、百合十五種中藥建立中藥(材)以加馬線滅菌保存方法。期能提供企業界進行中藥(材)加馬線照射及行政單位制訂中藥材加馬線滅菌之法規、微生物污染含量管制之研訂參考，並進行照射後藥材之品評，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。

## 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-60 照射熱室中進行。照射劑量範圍由 1 kGy 至 20 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。其成分包括 0.001M FeSO<sub>4</sub>，0.001M NaCl 及含飽和空氣之 0.8N 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 光波通過劑量計溶液，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)取樣與輻射照射

研究所用之丹參、桔梗、杏仁、白芷、山楂、白朮、廣橘皮、麥門冬、浙貝母、茯苓、金銀花、貝母、五味子、大黃、百合等 15 種中藥(材)，分別由中藥行及中藥進口商金保安公司取樣。對每一中藥材樣品進行五次取樣，每一取樣點做三重複取樣。每一樣品以無菌方式稱取 15 g 置於樣品瓶中，將樣品瓶攜入鈷-60 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。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。

## 三、培養基及磷酸緩衝液之配製

(一)平面培養基 Plate Count Agar (PCA; Difico. Co.)、Potato Dextrose Agar (PDA; Difico. Co.)之製備：取 PCA 粉末 23.5g、PDA 粉末 39g 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，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，冷卻備用。

(二)液態培養基 Tryptic Soy Broth(TSB; Difico. Co.)、及 Plate Count Broth (PCB; Difico. Co.)製備：取 TSB 粉末 30 g，PCB 粉末 17 g，分別加入含有蒸餾水之三角瓶中，最後體積為 1 L，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  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ，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。

#### 四、微生物之菌數測定及分離

經不同輻射劑量照射處理或未經處理的中藥材樣品以下列二種方式進行微生物含量及殘存計數：

(一)表面平板計數法(surface plate count)：樣品照射後取出即加入磷酸緩衝液，於 4°C 下浸泡 60 分鐘，再置於振盪器中以 75 rpm、7°C 振盪 30 分鐘，使樣品中之微生物懸浮於緩衝液中。懸浮液經適當稀釋後塗抹於 PCA 及 PDA 培養基上。將之置放 25°C 培養箱中，第二天取出計數生長較快之菌落，第三、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。

(二)樣品微生物殘存直接觀察法：將中藥樣品直接置入無菌之平板培養基表面，置於 25°C 培養箱中培養 1~7 天。以目測及顯微鏡連續觀察與記錄樣品上及周圍之微生物生長狀況，每一照射劑量之樣品均進行五重複測試觀察。

#### 五、加馬線照射後中藥材之貯存測試

將上述十五種中藥材個別以夾鏈袋分裝封口，依上述研究所得各藥材所需輻射滅菌之最高劑量進行照射，取出後置於室溫中貯存。分別於第 1、2、3 個月取出，以上述二種方式進行微生物含量測試與觀察，以了解照射後中藥材之貯存安定性。

## 六、官能品評

1. 以目測及顯微鏡觀察，並照相記錄照射前、後樣品之外觀形狀、顏色等是否變化。
2. 篩請 25 位平日有食用中藥之人員為正式品評員，將分裝的樣品分別以所需照射劑量滅菌後，取出與未經照射處理之對照組就外觀與氣味進行差異性分析，所用之三角試驗(Triangle test)問卷如圖一，品評進行之情形如圖二所示<sup>(36)</sup>。依據品評員答對之數目判斷該中藥材感官特性是否有顯著性差異( $p < 0.05$ )，以了解照射是否影響中藥材之感官品質。另亦隨機徵求 30 位一般消費者進行上述測試，期以此結果建立消費者之認同。

## 七、照射藥材之放射活性偵測

取中藥材樣品 10 克以 10 kGy 加馬輻射照射後取出，以 HPGe 偵測器之加馬能譜偵測系統進行加馬能譜分析。隨後將樣品以 115°C 烘乾 17 小時，再以 450°C 灰化處理 24 小時。混合均勻後，取 200 mg 灰化樣品裝入不銹鋼培養皿（直徑 47 mm，厚 1 mm），加少許去離子水及酒精使樣品均勻散開，再以紅外線燈烘乾。最後樣品以  $\alpha$ 、 $\beta$  計測系統（ $\alpha$ 、 $\beta$  counting system, LB5100, Tenclec）偵測樣品中之總量  $\alpha$ 、 $\beta$  核種活性。

## 參、結果

### 一、中藥材加馬線照射滅菌

八十九年度研究計畫探討列為優先管制的丹參、桔梗、杏仁、白芷、山楂、白朮、廣橘皮、麥門冬、浙貝母、茯苓、金銀花、貝母、五味子、大黃、百合十五種中藥(材)加馬線輻射滅菌及微生物含量測定，以表面平板計數法計數不同劑量照射後樣品中微生物之殘存率。結果顯示，同一種中藥樣品因批次不同其微生物含量有很大差異。中藥樣品經不同輻射劑量處理後分別浸於緩衝液中振盪，取懸浮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。十五種中藥材中以杏仁、丹參、山楂之微生物污染情形較嚴重，如表 1 所示。樣品所含菌數約  $10^3$ - $10^4$  CFU/g，照射劑量需 8-10 kGy 方能達到良好滅菌效果。其中杏仁樣品之單位重量所含菌數為  $10^3$ - $10^4$  CFU/g，不同次取樣之樣品間微生物含量及微生物相具有極大差異。部份樣品於 6 kGy 劑量照後可達完全滅菌；而有些樣品則需以 10 kGy 之照射劑量後方可達完全滅菌。圖 3 為不同批次杏仁直接放置於固體培養基上培養 3 天之微生物相，圖中顯示 A、B 樣品之微生物相有顯著不同，但經 6 kGy 加馬線照射後之 a、b 樣品微生物之數目及種類已明顯減少。顯示除不同批次取樣杏仁之微生物相有明顯不同外，不同批次樣品接受相同劑量照射後之滅菌效果亦有不同。圖 4 為不同批次取樣之杏仁中主要菌株對培養基與藥材基值之生長趨性，可清楚見到不同批次杏仁之主要微生物相的差異，圖 4(A)中杏仁之主要菌株為白色且較不生長於中藥表面，而趨向於培養基上生長，而圖 4(B)之杏仁中主要為一黃色菌株長滿於杏仁之表面與周圍。圖 5(A)為杏仁經 0、2、6、8 kGy 照射、浸泡、震盪後所取之微生物懸浮液於培養基上之微生物相，隨著輻射劑量的增加，其微生物相呈現明顯變化。未經照射之樣品中包括一主要黃色及一乳白色菌株，且黃色

菌株佔優勢。經 2 kGy 照射後樣品中之黃色菌落數已下降；經 6 kGy 照射後黃色菌落明顯減少，白色菌落呈現優勢；8 kGy 照射後除菌數已明顯減少且殘存者主要為乳白色菌落而不見黃色菌落，顯示白色菌株較黃色菌株更抗輻射。圖 5(B) 為未經照射之杏仁經培養後於解剖顯微鏡下可見主要菌株於杏仁表面生長之情形。

丹參經 0、2、4、6、8、10 kGy 鈷六十照射後微生物殘存結果示於表 1。丹參所含菌數為  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g，經 6 kGy 照射後多數樣品中已無微生物，而至 8 kGy 輻射照射後，樣品之浸泡懸浮液中皆已測不到菌數。將未經照射與經 6 kGy 照射之丹參樣品以磷酸緩衝液浸泡、稀釋後塗於培養基上（圖 6A），可見未經照射者單位重量之微生物高達  $10^3$  CFU/g 以上，而經照射者則菌數顯著降低。將未照射與經 6 kGy 照射之丹參樣品直接置於 PCA 平板上，於第 5 天觀察之微生物生長情形，可看到未經照射之樣品上及其周圍生長大量微生物，經 6 kGy 劑量照射後之樣品上已不見微生物生長（圖 6B）。

圖 7 為未經照射之廣橘皮樣品直接放置於培養基與懸浮於磷酸緩衝液後塗抹於培養基上經 3 天培養之微生物相，二者皆可明顯見到大量黴菌與細菌生長於培養基上。廣橘皮經 0、2、4、6、8、10 kGy 鈷六十照射後微生物殘存結果示於表 1。樣品所含菌數為  $10^2 \sim 10^4$  CFU/g，不同批次樣品之微生物含量有很大差異，經 6 kGy 照射後其微生物含量已有明顯下降，而至 8 kGy 輻射照射後，五批次樣品之浸泡懸浮液中已測不到菌數。圖 8 為不同批次廣橘皮經 0、2、4、6 kGy 輻射照射後之微生物相，不同批次樣品之微生物含量與種類有極大差異，圖 A 中之樣品以 4 kGy 照射後僅見單一菌株殘存，而經 6 kGy 照射後已無菌落生成，而圖 B 中樣品經 6 kGy 照射後仍有微生物殘存。

表二為山楂、金銀花、麥門冬經不同劑量照射樣品中微生物之殘存量，其微生物量為  $10^2\sim 10^3$  CFU/g，所需輻射滅菌劑量為 8 kGy。圖 9 所示為未經輻射照射之山楂樣品，直接置於培養基表面與浸泡之懸浮液塗抹於培養基平板上培養，經 5 天後之微生物相，可看出未經照射者有多種不同顏色及菌落形態的微生物繁殖，其中黴菌明顯佈滿於山楂周圍，此時原先於第 2 天山楂樣品及周圍所見之細菌菌落已被黴菌所覆蓋。圖 10 為不同批次之金銀花經 4 kGy 與未經照射後直接置於固體培養基培養 3 天後之微生物相，可見未經照射之樣品有許多微生物菌落生成，而照射後之金銀花則有明顯的滅菌效果。圖 11 為未經照射之麥門冬直接放置於培養基與懸浮於磷酸緩衝液後塗抹於培養基上經 2 天培養之微生物相，可見其中之微生物菌相並不複雜，主要為一白色菌株。

桔梗經 0、2、4、6、8 kGy 鈷六十照射後微生物殘存結果示於表 3。樣品所含菌數為  $10^2\sim 10^3$  CFU/g，經 8 kGy 照射後其五批次樣品之浸泡懸浮液中已測不到菌數。圖 12 為解剖顯微鏡線所見未經照射桔梗之微生物相。

茯苓樣品鈷六十照射後微生物殘存結果示於表 3，部分批次所含菌數高於  $10^3$  CFU/g，而部分低於  $10^2$  CFU/g，經 8 kGy 照射後樣品之浸泡懸浮液中已測不到菌數。圖 13 為未經輻射滅菌處理之茯苓直接放置及懸浮成菌液塗於培養基上培養，經 3 天後觀察可見二者均有許多黴菌及細菌生長。將經 4 kGy 照射處理與未經照射之茯苓，直接置於固體培養基培養 3 天後觀察(圖 13 B)，經 4 kGy 照射處理後可見有明顯之滅菌效果，比較圖 A 與 B 可見不同次取樣之茯苓微生物相有顯著不同。

表 3 所示白芷未照射前樣品微生物量約為  $10^2$  CFU/g，圖 14A 為未經輻射滅菌處理之白芷無論直接放置或懸浮成菌液塗於培養基上者均

有微生物生長。圖 14 B 可見 6 kGy 照射處理後樣品經培養 3 天後觀察則不見任何微生物菌落之存在。

表 4 所示為百合、五味子與浙貝母經 0、2、4、6、8 kGy 鈷六十照射後微生物殘存結果。五味子、百合與浙貝母微生物量約為  $10^2$  CFU/g，以 6 kGy 劑量照射即能達完全滅菌。圖 15A 與 B 為不同批次百合樣品經 0、2、4、8 kGy 輻射照射後之微生物相，圖中未經照射樣品之培養皿中皆生長許多黴菌與細菌，而隨照射劑量增加菌數明顯減少，圖 A 中樣品經 8 kGy 劑量照射後樣品中無任何微生物生長，而圖 B 中之樣品照射劑量達 6 kGy 時即無微生物生長。圖 16 所示為五味子未經照射及經 6 kGy 照射後置於培養基上 5 天後之微生物相，可見未經照射者培養基上佈滿黴菌菌絲，而經 6 kGy 照射者目測時仍不見微生物生長。圖 17 為浙貝母未經處理與經 4 kGy 照射處理後培養 3 天之微生物相，其中經 4 kGy 照射之樣品已不見任何微生物菌落之生成。將未經照射處理之浙貝母於解剖顯微鏡下觀察，可見有微小之黴菌菌絲於樣品上生長而不生長於培養基上 (圖 17 B)，若以肉眼直接觀測或培養之時間不足時，易被忽略而有低估藥材中所含菌量之可能。

15 種中藥材中微生物含量較低者為白朮、川貝母與大黃，其經 0、2、4、6、8 kGy 鈷六十照射後微生物殘存結果如表 5 所示。樣品之菌量多低於  $10^2$  CFU/g，其中白朮與川貝母只需 6 kGy 劑量照射可達完全滅菌，而大黃本身之菌量較低，只需 4 kGy 劑量照射即達完全滅菌。圖 18 為不同批次之白朮樣品未經照射及經 4 kGy 照射後培養三天之微生物相，其中未經照射之白朮中部分樣品之表面或周圍有菌落生成，而部分樣品並無微生物生長。經照射處理之樣品已完全不見微生物的滋生。圖 19 為川貝母未經照射與經 6 kGy 劑量照射之樣品培養後的微生物相，培養 3 天時未經照射者之培養基上可見黴菌與細菌生長於藥材本身



與其周圍，而照射處理後之樣品無微生物生長。經 5 天培養後觀察可見 3 天時之培養皿中之菌株增生往外擴散形成更明顯之菌落，而照射處理後之樣品仍無微生物生長。可見加馬線照射中藥材確實可有效滅菌。圖 20 中為大黃樣品之微生物相，圖中未經照射之樣品中只見到一處菌落，由解剖顯微鏡下觀察可見其為黴菌(圖 20B)，而經照射處理者仍為無菌狀態。

## 二、中藥材貯存試驗

將 15 種中藥材所測之微生物含量與滅菌所需劑量整合為表 6。統計結果顯示十五種中藥材中以杏仁、山楂、丹參、廣橘皮、金銀花、麥門冬、桔梗、茯苓之生菌數最高，單位重量菌數為  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g，經 8~10 kGy 劑量照射可達完全滅菌效果。白芷、百合、浙貝母、白朮、五味子、川貝母等次之，單位重量菌數為  $10^2 \sim 10^3$  CFU/g，經 6 kGy 劑量照射可達完全滅菌。而大黃為十五種中藥材中生菌數較低者，平均單位重量所含菌數低於  $10^2$  CFU/g，只需 4 kGy 照射即可達完全滅菌。將此十五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，分別於貯藏之第 1、2、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。結果顯示中藥材包裝後照射處理，經 3 個月之室溫貯藏，與剛照射後樣品所培養出之微生物含量相同，且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仍無微生物生長。

### 三、照射後中藥材之官能品評測試

由目測及顯微鏡觀察照射前後之中藥材，結果顯示中藥材的外觀、顏色並無變化。另篩選 25 位品評員進行中藥材外觀及香氣特性之差異測試，比較未經照射與照射後中藥材。由 25 名品評員之三角測試結果，答對之人數未達統計上  $p < 0.05$  之顯著差異(25 人中需 13 位以上品評員答對)<sup>(36)</sup>，而 30 位消費者之測試結果亦無顯著性差異，顯示經照射之藥材其外觀品質與感官特性皆與未照射者無明顯差異。

### 四、加馬線照射中藥材之放射活性

將接受 10 kGy 加馬線照射之上述 15 種中藥材，於照射後立即以多頻道能譜分析其  $\gamma$  射線核種、強度，及其總  $\alpha$ 、 $\beta$  核種強度，並與未經照射的中藥材之偵測結果比較，計數時間為 600 分鐘。結果顯示照射前、後樣品中所測得之主要核種皆為 K-40，為生物樣品原本存在之核種。照射前、後樣品之總  $\alpha$ 、 $\beta$  計測值相似，即鈷六十加馬線照射中藥材並未生成具放射性之物質或核種。

## 肆、討論

本其計畫所測試之 15 種中藥材中，雖最高之單位重量微生物含量可達  $10^4$  CFU/g，且不同批次取樣之同一種中藥材之微生物含量亦有明顯差異，但經 10 kGy 輻射照射後皆可達完全滅菌效果。部份中藥材之微生物含量雖較低，甚至達 10 CFU/g，但中藥材由產地運輸至消費地常耗相當長之時間，長時間之微生物生長對藥材中成分亦可能造成耗損。我們的研究以二種方法測試中藥材中微生物含量，二者結果稍有出入，可用以相互比對。將中藥材樣品直接置於固體培養基上除以目

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，故菌落較不突顯於目視時易被忽略，而鏡檢可見到藥材中有許多微生物生長，並可觀察微生物於中藥材上生長及藥材受腐蝕之狀況。此外，由藥材周圍向培養基上延生之微生物菌落或菌絲，亦是常作為判別微生物污染之觀察點，但需注意的是，部分微生物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，需於顯微鏡下觀察方可看見，因此以二種方法同時檢測照射後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。樣品中微生物局部高密度分佈及主要菌株之高度抗輻射性是造成輻射劑量提高之主要原因。本年度計畫所測之 15 種中藥材皆在 10 kGy 時達完全滅菌。由品評結果顯示照射後中藥材之色澤、香氣無明顯變化，但限於經費與人力，照射後藥材之成分未能做進一步分析。

## 伍、結論與建議

藥材中之微生物含量是直接影響中藥材品質者，我們在花粉及中藥材輻射照射之研究中證實加馬射線為花粉等滅菌、滅蟲之適當方法。本次研究中嘗試將部分藥材於購回後不經任何處理，直接貯存於室溫中經 6 個月後觀察。圖 21、22 分別為廣橘皮、山楂、杏仁與茯苓因無適當處理置於室溫中，遭嚴重蟲蛀與微生物污染造成藥材腐朽、發霉的情形。圖 22 則為中藥材中大量滋生造成蟲蛀之昆蟲。上述皆可明顯看出微生物及害蟲的長期生長腐蝕，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。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，且伽馬照射不會誘發任何放射性物質，故為中藥材滅菌、滅蟲最好方法，有必要研發拓展。

本計畫將研發中藥（材）之伽馬線滅菌：我們初步研究結果顯示以 10 kGy 之伽馬射線照射，對本年度所測試之 15 種中藥（材）已有良好的滅菌效果。官能品評結果顯示，照射前、後之藥材品評上無顯著性差異。本計畫將探討中藥（材）伽馬線照射滅菌，測試照射劑量與微生物殘存量之相關性，確認最佳照射劑量等條件，提供企業界進行中藥（材）伽馬照射及行政單位制訂伽馬線滅菌之照射劑量法規參考依據，並進行照射後藥材之品評，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。減少中藥材中的微生物含量，改善中藥材之衛生條件及防止藥物療效之降低，便於中醫藥委員會對中藥包裝規格之研訂。

## 陸、參考文獻

1. Ehlermann DAE : Dosimetry and Identification as a Tool for Official Control of Food Irradiation. *Radia. Phys. Chem.*, 1995 ; 46 : 693-698.
2. Loaharanu P : Cost/benefit aspects of food irradiation. *Food Technol.*, 1994 ; 48 : 104-108.
3. Mayermiebach E : Food irradiation-a means of controlling pathogenic microorganisms in food. *Food Sci. Technol.-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 1993 ; 26 : 493-497.
4. Takehisa M, Ito H : Experiences of Food Irradiation in Japan. *Food Rev. Int.*, 1986 ; 2 : 19.
5. Thakur BR, Singh RK. : Food Irradiation-Chemistry and Applications. *Food Rev. Int.*, 1994 ; 10 : 437-473.
6. 劉希智, 川烏鈷六十 $\gamma$ 射線輻照前後生物活性的研究, *中醫藥信息*, 1996 ; 13 : 55.
7. 陳金月, 60鈷- $\gamma$ 射線輻照滅菌對大黃主要成分的影響, *時珍國藥研究*, 1996 ; 154-155.
8. 王莉, 康佳膠囊輻照滅菌效果考察, *中成藥*, 1995 ; 17 : 15-16.
9. 李習文, 梁婧, 李英, Co-60輻照滅菌傷復膜最佳輻照劑量選擇實驗, *長春中醫學院學報*, 1995 ; 11 : 54.
10. 汪洪湖, 錢進, 陳梅筠, Co-60輻照滅菌對賴氨匹林穩定性的影響, *中國藥學雜誌*, 1995 ; 30 : 605-606.
11. 楊愉君, 鈷六十 $\gamma$ 射線輻照對藥理作用的影響, *中成藥*, 1995 ; 17 : 16-17.