

編號：CCMP95-RD-039(2-2)

總計畫：中藥材輻射滅菌劑量之評估研究

子計畫二：中藥材輻射滅菌劑量對指標成分及療效之影響(2-2)

張永勳^{1,2}、何玉鈴³、周鳳英⁴、朱溥霖⁵
賴尚志¹、黃俊評¹、陳怡蓓¹

¹ 中國醫藥大學 中國藥學研究所

² 中國醫藥大學 附設醫院中藥局

³ 弘光科技大學 護理系

⁴ 清華大學原科中心

⁵ 高雄市中藥商業同業公會

摘要

中藥材在儲存過程中易吸濕氣，利於微生物及倉儲昆蟲之生長，除破壞藥材之成分外，也可能產生有毒物質。近年來世界各國對中草藥及食物含菌量之要求也越趨嚴格。輻射滅菌在歐美已進行多年，國內清華大學及核能研究所近年積極從事中藥輻射滅菌之研究，唯大都偏於有效滅菌之輻射劑量探討。本計畫從總計畫所選定之十種中藥藥材中，第二年選取山楂、丹參、川芎及陳皮 4 種藥材，除進行正常有效滅菌之 10 kGy 劑量照射外，也進行 15 kGy, 20 kGy, 30 kGy 及 40 kGy 之加馬射線照射，利用 HPLC 比較其照射前後有效指標成分含量之變化及其抗氧化活性差異之比較。

山楂、丹參、川芎及陳皮利用甲醇作為萃取溶劑，經超音波震盪 3 次萃取過濾後，利用 Waters XTerra RP18 5 μ m (4.6 \times 250mm)管柱及 Waters Atlantis RP18 5 μ m (4.6 \times 250mm)，山楂之流動相：乙腈：水 (15：85) 檢測波長：280nm，流速：1mL/min；丹參之移動相：甲醇：水(75：25)，檢測波長：245nm，流速：1mL/min；川芎之流動相：甲醇：0.05%磷酸水溶液(40:60)，檢測波長：320nm，流速：

0.8mL/min；陳皮之流動相：甲醇：1%磷酸水溶液(40：60)，檢測波長：284nm，流速：1mL/min。山楂、丹參、川芎及陳皮利用甲醇作為萃取溶劑，以超音波震盪萃取 3 次，合併濾液濃縮到乾，作為檢品。 α -tocopherol 作為標準品，DPPH 自由基清除能力，於 517nm 波長下偵測其吸光值。Trolox 作為等價抗氧化能力試驗標準品，於 734nm 波長下偵測其吸光值。山楂、丹參、川芎及陳皮經 10 kGy, 15 kGy, 20 kGy, 30 kGy 及 40 kGy 不同劑量輻射照射後，其所含之指標成分含量經 Scheffe 法分析後得知，在山楂指標成分含量部分，顯示未照射輻射與各照射劑量間之指標成分含量變化有顯著性的差異；丹參指標成分含量部份，與未照射輻射相比均無顯著性差異，川芎中之指標成分含量除 10 及 15kGy 外，其他均有顯著性差異；陳皮指標成分含量部份，與未照射輻射相比均無顯著性差異。比較不同劑量之輻射滅菌及未經輻射處理藥材甲醇抽出物，對 DPPH 自由基清除能力抗氧化活性變化及 Trolox 等價抗氧化能力評估，經由單因子變異數分析 Scheffe 法，山楂及丹參所有照射劑量之檢品 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 等價抗氧化能力均較未照射之檢品來的低，統計結果顯示照射輻射之各組與未照射輻射相比，均有顯著性的差異。川芎 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 等價抗氧化能力均較未照射之檢品來的低，經由單因子變異數分析 Scheffe 法分析結果顯示未照射輻射之各組與未照射輻射相比，均沒有顯著性的差異。陳皮 DPPH 自由基清除能力經統計分析，各輻射劑量與未照射輻射沒有顯著性差異，ABTS 陽離子自由基清除率隨著輻射劑量愈高其清除率愈差，經 Scheffe 法分析，各輻射劑量與未照射輻射沒有顯著性的差異。

關鍵字：山楂，丹參，川芎，陳皮，輻射滅菌，表兒茶素，丹參酮 I，阿魏酸，橙皮苷，抗氧化

編號：CCMP95-RD-039(2-2)

The effects of gamma irradiation for microbial decontamination on the marker constituents and their biological activities(2-2)

Yuan-Shiun Chang^{1,2}, Yu-Ling Ho³, F. I. Chou⁴, Pu-Ling Chu⁵
Shang-Chih Lai¹, Chiun-Ping Huang¹, Yi-Chiann Chen¹,

¹Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences
China Medical University

²Chinese Crude Drug Pharmacy, China Medical University Hospital

³Nursing Department, Hungkung University

⁴Nuclear Science and Technology Development Center

⁵Kaohsiung Chinese Medicine Association

ABSTRACT

Chinese herbs tend to absorb humidity during preservation, which provides a favorable environment for microorganisms and storehouse insects. Besides damaging the components of these Chinese herbs, toxic materials may be produced. During recent years, many countries have been enforcing strict regulations concerning the number of bacteria in food and in botanical drugs. The technique of gamma irradiation on microbial decontamination has been widely used in western countries for several years. In Taiwan, National Tsing Hua University and the Institute of Nuclear Energy Research have performed several researches on the related topic, mostly on the effective dose of gamma irradiation.

This program will select from ten Chinese herbs from the primary program. For the second year, Fructus Crataegi, Radix Salviae, Rhizoma Chuanxiong and Pericarpium Citri Reticulatae were chosen.. The herbs

were exposed to the normal effective dose of gamma irradiation, which is 10 kGy. Higher doses such as 15kGy, 20kGy, 30kGy, 40kGy were also tested. The amount of marker component before and after the exposure of gamma irradiation were measured and compared. Their anti-oxidizing activity were also evaluated and compared.

Fructus Crataegi, Radix Salviae, Rhizoma Chuanxiong and Pericarpium Citri Reticulatae were extracted with methanol with ultrasonic device for three times and analyzed by Waters XTerra RP18 5 μ m (4.6x250mm) column and Waters Atlantis RP18 5 μ m (4.6x250mm). The mobile phase for Fructus Crataegi was acetonitrile: H₂O (15:85) and the detection wavelength was 280nm, and the flow rate was 1mL/min. The mobile phase for Radix Salviae was Methanol: H₂O (75:25) and the detection wavelength was 245nm and the flow rate was 1mL/min. The mobile phase for Rhizoma Chuanxiong was Methanol: 0.05% phosphoric acid(40:60) and the detection wavelength was 320nm and the flow rate was 0.8mL/min. The mobile phase for Pericarpium Citri Reticulatae was Methanol: 1% phosphoric acid(40:60) and the detection wavelength was 284nm and the flow rate was 1 mL/min.. For anti-oxidizing activity, α -tocopherol was used as standard. The DPPH free radical scavenging activity were measured at 517 nm.

The content of Epicatechin, Tanshinone I, Ferulic acid and Hesperidin of unirradiated and radiated Fructus Crataegi, Radix Salviae, Rhizoma Chuanxiong and Pericarpium Citri Reticulatae were analyzed by HPLC. After statistical analysis, the epicatechin content of Fructus Crataegi showed significant decrease after gamma irradiation. Content of Tanshinone I of Radix Salviae, after statistical analysis, no significant difference was found. The Ferulic acid content of Rhizoma Chuanxiong decreased after gamma irradiation expect the 10 and 15 kGy dose. The Hesperidin of Pericarpium Citri Reticulatae, after statistical analysis, no significant difference was found. .

The antioxidizing activity of irradiated Fructus Crataegi and Radix Salviae all showed significant decreased antioxidizing activity. Rhizoma Chuanxiong and Pericarpium Citri Reticulatae showed lower antioxidizing activity, however, no statistic difference were found.

Key ward : Fructus Crataegi, Radix Salviae, Rhizoma Chuanxiong, Pericarpium Citri Reticulatae, gamma irradiation, Epicatechin , Tanshinone I , Ferulic acid and Hesperidin , antioxidization activity

壹、前言

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，將破壞中藥材的成分、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。

中藥滅菌實驗是從 20 世紀 70 年代開始的，主要有 4 種方法：水洗除菌、化學藥劑滅菌、(乾或濕)熱滅菌、輻射滅菌。但不久在各地蓬勃開展的試驗研究中，輻射滅菌脫穎而出。目前大陸用於輻射加工的鈷源裝置有 100 多座，台灣則有台中工業區之中國生化及新竹的核能研究所和清華大學有輻射加工的鈷源裝置。除了中藥滅菌外，還用於輻射滅菌食品滅菌殺蟲和保鮮、醫療器械滅菌、玩具滅菌、輻射化工、材料改性以及寶石改色等項目。大陸天津原子能輻照中心即天津市技術物理研究所鈷源成立於 1986 年。近年來，天津市各中藥廠、部分製藥廠、醫院和許多保健藥品的生產廠家都在物理所的鈷源輻射滅菌。

行政院衛生署中醫藥委員會自民國八十八年起即開始探討中藥輻射滅菌之可行性評估，委託清華大學及核能研究所進行中藥輻射滅菌之研究，並於民國八十八年一月二十二日假桃園龍潭行政院原子能委員會核能研究所舉辦「原子能科技於中醫藥應用研討會」討論中藥輻射滅菌相關之主題。近年來中醫藥委原會為提昇中藥用藥安全，特別提出建構中藥用藥安全五年計畫，重視中藥之安全，提昇中藥之品質⁽¹⁾。

衛生署中醫藥委員會自民國八十八年起，逐年補助清華大學及核能研究所進行中藥輻射滅菌研究。包括：CCMP88-CP-003 中藥材加馬射線滅菌及微量元素檢驗方法與規格之研究；CCMP89-RD-045 中藥(材)加馬射線滅菌及重金屬含量檢測之品質管制研究(3-2)；CCMP90-RD-111 中藥(材)加馬射線滅菌研究(3-3)；CCMP90-CT-44 輻射照射對六味地黃丸之滅菌效果及主成分影響研究；CCMP92-RD-038 四種常見中藥材輻射滅菌後對其療效指標成分的影響研究；CCMP92-RD-040 加馬輻射照射對中藥材滅菌及成分影響評估；CCMP94-RD-010 加馬輻射照射對中藥材滅菌及成分影響評估等⁽²⁾。

聯合國糧農組織(FAO)、國際原子能機構(IAEA)和世界衛生組織(WHO)多次召開國際輻射食品科學討論會，評價輻照食品安全性。

1980 年 10 月，由上述 3 大組織組成的“輻照食品聯合專家委員會”歸納各國 30 多年安全性研究結果，確認“為儲存目的，任何食物受到總平均劑量 10 kGy 以下的輻照（ γ 射線和 10 MeV 以下電子束），不再需要進行毒物學方面的檢測，也沒有特殊營養和微生物問題”。因此，輻照技術作為和平利用原子能的一項高新技術，已經廣泛地應用於中藥的滅菌過程中。而且本總計畫主持人清華大學周鳳英教授近幾年來研究成果發現，以 10 kGy 加馬射線照射，對多數中藥材已有良好的滅菌效果，且對其中部份之主成分無明顯影響⁽³⁻⁹⁾。

輻照產品品種有中藥材、中成藥等各種丸、散、片、膠囊，還有西藥和保健品。輻射滅菌不限定包裝形式，而且可以是原料、半成品、成品，批量沒有任何限制。中藥輻射滅菌已經成為食品和藥品生產中必不可少的。在美國、英國和歐盟國家都允許輻射滅菌中藥，美國已寫入藥典。德國原來在輻射滅菌食品方面比較保守，但是隨著歐盟的成立也承認輻射滅菌食品。目前世界上絕大多數國家都制定了相應的法規，允許輻照食品，也包括植物藥。

輻射滅菌具有下列優點：

- (1) 滅菌徹底，無污染和殘毒，也不會產生感生放射性。
- (2) 滅菌在常溫下進行，即“冷滅菌”，較不影響中藥成分。
- (3) 產品可以在包裝後滅菌，沒有二次染菌問題，只要包裝不透菌，可以長期保證品質。
- (4) 適合大或小批量連續作業，節約能源，成本低廉。

中藥輻射滅菌除照射劑量需達滅菌效果外，選取適合包材及有效包裝方式是輻射滅菌後中藥材有效保存所必須的，施予之照射劑量需對中藥材之成分及療效不致造成影響。輻射照射對中藥材中之成分及療效是否造成變化需加評估，對中藥從業人員及民眾需進行中藥材滅菌觀念之教育宣導。

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⁽¹⁰⁻¹⁵⁾。中國大陸已有多個醫、藥等相關研究單位，進行中藥材輻射滅菌前、後的生物活性、主成分等比較試驗。如動物類藥材（蛤蚧、水蛭等）經輻射照射滅菌後，有效地殺滅藥材內的活蟲與蟲卵，完好保存長達 11 個月⁽¹⁶⁾；用 HPLC 法測定安息香在 10 kGy 劑量照射前後，其有效成分肉桂酸含量無明顯變化⁽¹⁷⁾；牡丹皮及延胡索等經輻射滅菌

前後之有效成分含量不變⁽¹⁸⁾；含有揮發性的生藥以輻射滅菌法比傳統乾燥滅菌法好⁽¹⁹⁾；中成藥滅菌亦能符合規定⁽²⁰⁾，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。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。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 1×10^4 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*)、綠膿球菌(*P. aeruginosa*)，及金黃色葡萄球菌(*S. aureus*) 等病原菌⁽²¹⁾。而國內目前於中華民國 94 年 7 月 27 日由行政院衛生署公告「中藥材及中藥製劑含有害物質限量標準及其適用範圍」⁽²²⁾ (草案)，內容指出：

- (1). 中藥碎片劑型之製劑，其微生物限量標準如下：大腸桿菌 (*Escherichia coli*)：不得檢出。
- (2). 沙門氏桿菌 (*Salmonella species*)：不得檢出。
- (3). 綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)：不得檢出。
- (4). 金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)：不得檢出。
- (5). 好氧性微生物總數 (Total plate count)：每克不得超過 100,000 個 (10^5 CFU/g)。
- (6). 酵母菌與黴菌數總數 (Yeast & Mould)：每克不得超過 100 個 (10^2 CFU/g)。

波蘭之藥物工業每年生產數千噸的草藥，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⁽²³⁾。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 等成分及植物中之黏液成分並無明顯變化⁽²⁴⁾。韓國草藥 *Paeoniae Radix* 經 10 kGy 照射滅菌後，其有效成分無改變且不產生有毒物質⁽²⁵⁾。巴西每年有價值 2 千 2 百萬美元之藥用植物出口，並進行多樣植物之輻射滅菌研究，顯示 10 kGy 輻射滅菌對多數植物中之 tannins、phenolic 及 β -carotene 等含量不會造成明顯的影響，唯有少數植物經 10 kGy 劑量照射後上述成分出現含量稍降低之現象⁽²⁶⁾。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⁽¹⁴⁾。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^(27,28)。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⁽²⁹⁾。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），及馬鈴薯片等多項食品進行輻射照射滅菌之研究⁽³⁰⁻⁴³⁾。如大豆之重要成分異黃酮素（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，甚至其抗氧化物質（如 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl）隨照射劑量而增加⁽⁴⁰⁾；冰淇淋經 3 kGy 劑量照射後其風味及成分無明顯變化⁽³⁹⁾；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⁽³⁸⁾。本計畫之總主持人清華大學周鳳英教授曾進行黃芩、白果、生地、熟地、枸杞、人參、川芎、黨參、山藥、當歸、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、柴胡、山茱萸、黃耆、虎杖、紫草、甘草、薏仁、枳殼、桂枝、紅花、葛根、杜仲、珍珠粉、神麩、連翹、酸棗仁、鬱金、霍山石斛、蒼朮、冬蟲夏草、黃精等 46 種中藥材及市售常用的六味地黃丸、加味逍遙散、辛夷散、補中益氣湯、歸脾湯等五種科學中藥方劑之輻射滅菌研究。結果顯示除珍珠粉需 25~27.5 kGy 照射劑量才能達完全滅菌，甘草、黃芩、枸杞、桂枝及冬蟲夏草等少數中藥材需以 15 kGy 之照射劑量滅菌外，以 10 kGy 加馬射線照射，對多數中藥材已有良好的滅菌效果，且對其中的主成分無明顯影響⁽³⁻⁹⁾。

本計畫除比較正常照射劑量 10 kGy 照射前後藥材之指標成分含量變化外，也進行耐受性試驗，增加 15kGy, 20 kGy, 30 kGy, 40 kGy 之加馬射線照射劑量，比較其指標成分之含量變化及活性變化差異。

本整合型計畫擬分兩年進行，研究成果期提供企業界進行中藥材加馬線滅菌之劑量，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。而中藥材輻射滅菌量產之落實執行，除政府立法規定之外，相關從業人員對輻射滅菌之瞭解，是確定其落實執行之主要因素，因此子計畫三將舉行產官學專家會議及中藥輻射滅菌暨實務研討會，將本計畫及子計畫一之研究成果彙整討論後，於研討會中報告並進行政策宣導，以推廣中藥輻射滅菌量產及對全國中藥商推廣輔導為目標，針對全國中藥商及其從業人員進行輔導，提供全國中藥從業人

員正確之輻射照射知識，溝通輻射殘留、變質等之疑慮，以推廣中藥材源頭管制及中藥用藥安全之觀念。期使中藥材照射滅菌法規化，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。

本計畫從總計畫所選定之十種中藥藥材中，第一年選取白芍及黃芩2種藥材，第二年選取陳皮、川芎、丹參及山楂等4種藥材，除進行正常有效滅菌之10 kGy劑量照射外，也進行15 kGy, 20 kGy, 30 kGy甚至40 kGy高劑量之加馬射線照射，並比較其照射前後有效指標成分含量之變化。

除HPLC分析比較指標成分含量變化外，第一年也將白芍及黃芩2種藥材，第二年選擇陳皮、川芎、丹參及山楂等4種藥材，經不同劑量(10 kGy, 15 kGy, 20 kGy, 30 kGy甚至40 kGy)加馬射線照射後，其抗氧化活性差異之比較。

貳、材料與方法

一、實驗材料與儀器

- (一) HPLC及抗氧化試驗用之藥材：山楂、丹參、川芎及陳皮購自台中市欣隆中藥行。
- (二) 試藥：LC級甲醇、LC級乙腈、Phosphoric acid、去離子水、DPPH。
- (三) HPLC標準品：山楂：表兒茶素(Epicatechin)，購自Sigma。
丹參：丹參酮I(TanshinoneI)，購自Sigma。
川芎：阿魏酸(Ferulic acid)，購自Sigma。
陳皮：橙皮苷(Hesperidin)，購自Sigma。
DPPH自由基清除能力標準品： α -tocopherol，購自Sigma。
- (四) 儀器：高效液相層析儀：WATERS™ 2695 Separation Module with autosampler 717⁺，偵測器：WATERS™ 996 Photodiode Array Detector，積分儀：WATERS™ 996 Photodiode Array Computer Integrater。

二、實驗方法

- (一) 將買來之山楂、丹參、川芎及陳皮分別秤取50 g置於血清瓶中，送至清華大學原科中心請周鳳英教授代為進行加馬射線輻射滅菌，輻射劑量分別為15 kGy, 20 kGy, 30 kGy及40 kGy，每一劑量均照射兩瓶。

(二) 不同劑量加馬射線照射前後之指標成分變化比較。

(1) 山楂之高效液相層析方法(44、45)

A. 對照品：表兒茶素(Epicatechin)

1. 標準品儲備溶液

取表兒茶素(Epicatechin)對照用標準品約 10 mg，精確稱定，加甲醇溶液溶成 10 mL (1 mg/mL)，經 45 μ m 濾膜過濾後，供作標準品儲備溶液。

2. 檢量線

取表兒茶素(Epicatechin)標準品儲備溶液稀釋成不同濃度，分別為 1、0.5、0.1、0.05 及 0.01 mg/mL。以標準品波峰面積比與標準品濃度，作檢量線並求出其線性回歸方程式及相關係數。

3. 檢品溶液

取本品粉末約 2 g，精確稱定，加甲醇溶液 20 mL，置於超音波震盪器萃取三十分鐘後過濾之，殘留物再以甲醇溶液 20 mL，同上操作重複兩次，合併上清液濃縮定量至 10 mL，再取 1 mL 定容至 10 mL，經 45 μ m 濾膜過濾後，作為檢品溶液。

B. 方法

層析管柱：Waters Atlantis RP18 5 μ m (4.6×250mm) Part NO.186001346

移動相：乙腈：水 (15：85)

檢測波長：280 nm

流速：1 mL/min

C. 再現性試驗

於標準品檢量線之範圍內，選取三種濃度，於同一日及不同的三天重複分析各三次，計算其相對標準差。

(2) 丹參之高效液相層析方法 (44、46-48)

A. 對照品：丹參酮 I (Tanshinone I)

1. 標準品儲備溶液

取丹參酮 I (Tanshinone I) 對照用標準品約 1 mg，精確稱定，加甲醇溶液溶成 10 mL (0.1 mg/mL)，經 45 μ m 濾膜過濾後，供作標準品儲備溶液。

2.檢量線

取丹參酮 I (Tanshinone I) 標準品儲備溶液，釋成不同濃度稀釋成不同濃度分別為 0.1、0.05、0.025、0.01 及 0.005 mg/ mL。以標準品波峰面積比與標準品濃度，作檢量線並求出其線性回歸方程式及相關係數。

3.檢品溶液

取本品粉末約 2 g，精確稱定，加甲醇溶液 20 mL，置於超音波震盪器萃取三十分鐘後過濾之，殘留物再以甲醇溶液 20 mL，同上操作重複兩次，合併上清液濃縮定量至 10 mL，再取 1 mL 定容至 10 mL，經 45 μ m 濾膜過濾後，作為檢品溶液。

B.方法

層析管柱：Waters XTerra RP18 5 μ m (4.6 \times 250mm) Part NO.186000496

移動相：甲醇：水(75：25)

檢測波長：245 nm

流速：1 mL/ min

C.再現性試驗

於標準品檢量線之範圍內，選取三種濃度，於同一日及不同的三天重複分析各三次，計算其相對標準差。

(3)川芎之高效液相層析方法 (44、46)

A.對照品：阿魏酸 (Ferulic acid)

1.標準品儲備溶液

取阿魏酸 (Ferulic acid) 對照用標準品約 10 mg，精確稱定，加甲醇溶液溶成 10 mL (1 mg/ mL)，經 45 μ m 濾膜過濾後，供作標準品儲備溶液。

2.檢量線

取阿魏酸 (Ferulic acid) 標準品儲備溶液，釋成不同濃度稀釋成不同濃度分別為 1、0.5、0.1、0.05 及 0.01 mg/ mL。以標準品波峰面積比與標準品濃度，作檢量線並求出其線性回歸方程式及相關係數。

3.檢品溶液

取本品粉末約 2 g，精確稱定，加甲醇溶液 20 mL，置於超音波震盪器萃取三十分鐘後過濾之，殘留物再以甲醇

溶液 20 mL，同上操作重複兩次，合併上清液濃縮定量至 10 mL，再取 1 mL 定容至 10 mL，經 45 μ m 濾膜過濾後，作為檢品溶液。

B.方法

層析管柱：Waters XTerra RP18 5 μ m (4.6 \times 250mm) Part NO.186000496

移動相：甲醇：0.05 %磷酸水溶液(40：60)

檢測波長：320 nm

流速：0.8 mL/ min

C.再現性試驗

於標準品檢量線之範圍內，選取三種濃度，於同一日及不同的三天重複分析各三次，計算其相對標準差。

(4)陳皮之高效液相層析方法 (44、46、49)

A.對照品：橙皮苷 (Hesperidin)

1.標準品儲備溶液

取橙皮苷 (Hesperidin) 對照用標準品約 10 mg，精確稱定，加甲醇溶液溶成 10 mL (1 mg/ mL)，經 45 μ m 濾膜過濾後，供作標準品儲備溶液。

2.檢量線

取橙皮苷 (Hesperidin) 標準品儲備溶液，釋成不同濃度稀釋成不同濃度分別為 1、0.5、0.1、0.05 及 0.01 mg/ mL。以標準品波峰面積比與標準品濃度，作檢量線並求出其線性回歸方程式及相關係數。

3.檢品溶液

取本品粉末約 2 g，精確稱定，加甲醇溶液 20 mL，置於超音波震盪器萃取三十分鐘後過濾之，殘留物再以甲醇溶液 20 mL，同上操作重複兩次，合併上清液濃縮定量至 10 mL，再取 1 mL 定容至 10 mL，經 45 μ m 濾膜過濾後，作為檢品溶液。

B.方法

層析管柱：Waters XTerra RP18 5 μ m (4.6 \times 250mm) Part NO.186000496

移動相：甲醇：1 %磷酸水溶液 (40：60)

檢測波長：284 nm

流速：1 mL/ min

C.再現性試驗

於標準品檢量線之範圍內，選取三種濃度，於同一日及不同的三天重複分析各三次，計算其相對標準差。

(三) 不同劑量之輻射滅菌後之抗氧化活性變化評估

1.提取及檢品製備

秤取 10 g 粉碎藥材，浸泡於 30 mL 甲醇中，以超音波振盪萃取三次，合併濾液濃縮到乾，秤取抽出物 100 mg 以甲醇定容至 10 mL，取 4 mg α -tocopherol 以甲醇定容至 10 mL，以供製備成不同濃度之檢品溶液。

2.DPPH 自由基清除能力(50)

↓ 取 5 mL 不同濃度的樣品溶液

↓ 加 1 mL 1mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

↓ 振盪均勻混合 15 秒，於室溫靜置 30 分鐘

↓ 測其 517 nm 波長下的吸光值

Inhibition percentage (%) = $[1 - (Ab_{517} \text{ sample} / AB_{517} \text{ control})] \times 100 \%$

3.Trolox 等價抗氧化能力試驗(51)

ABTS●+ 自由基水溶液配製：

7 mM ABTS●+

[2,2'-Azinobis-(3-ethylbezothiazoline-6-sulfonicacid)] 溶液，再加入 Potassium persulfate 混合均勻，最終濃度為 2.45 mM，避光常溫下反應 12-16 小時，此反應試液用酒精稀釋，使其在 734 nm 的吸光值為 0.70 (+ 0.02) 備用。

↓ 測試時取上述稀釋液 1 mL

↓ 加入 10 μ L 不同濃度的樣品溶液或 Trolox (正對照組) 進行反應

↓ 1 分鐘後測其在 734 nm 的吸光值

(四) 召開產官學編審小組會議

本計畫與另兩個子計畫於 96 年 6 月 5 日假行政院衛生署中醫藥委員會召開產官學編審會議，另外也邀請各級中藥公會理事長共同參與，以達到教育與宣導之目的。

貳、結果

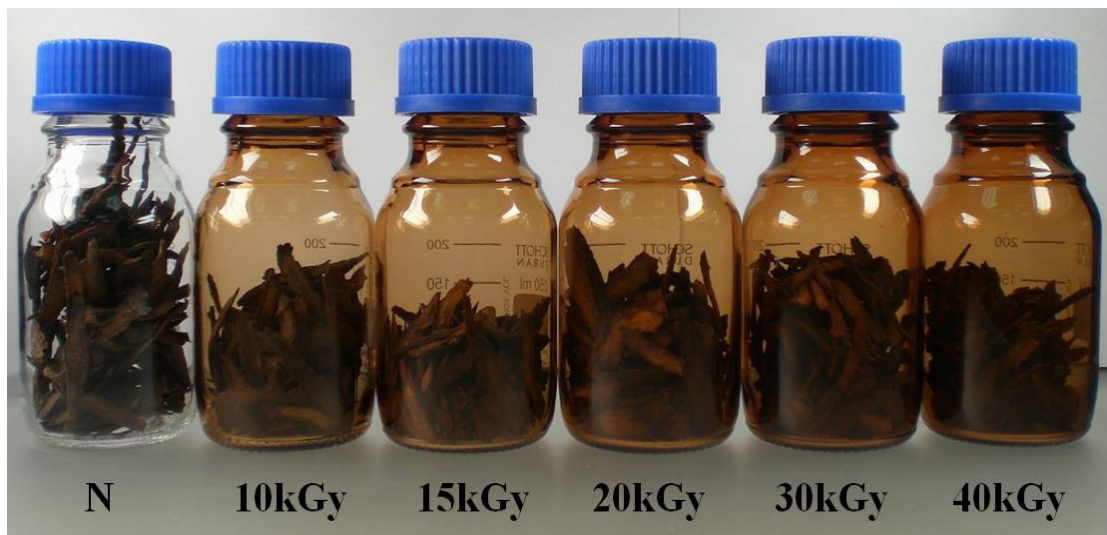
一、不同劑量加馬射線照射前後之指標成分變化比較。

(一)外觀差異

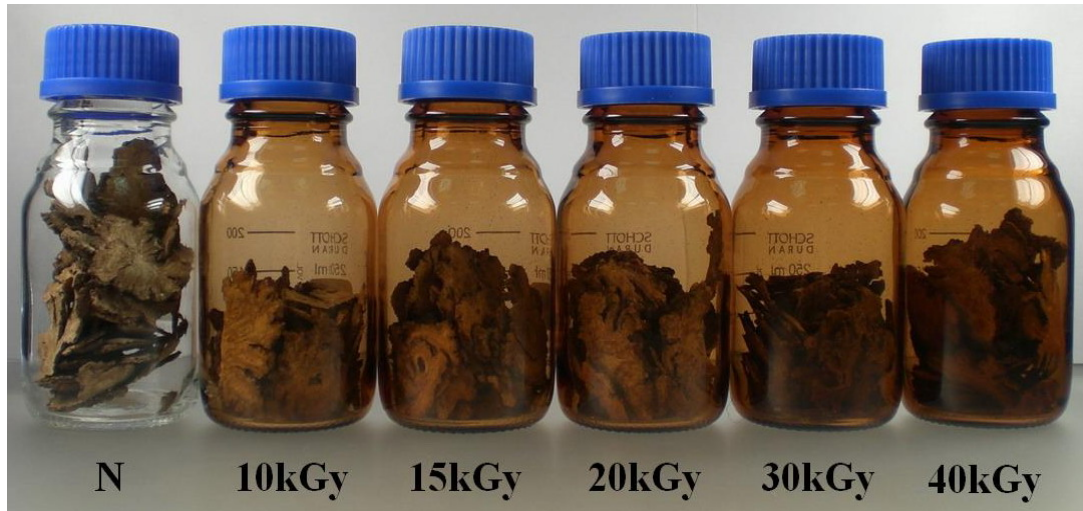
輻射滅菌後之藥材外觀變化，山楂、丹參、川芎及陳皮因本身顏色均較深，在輻射滅菌後，其顏色沒有明顯的改變。



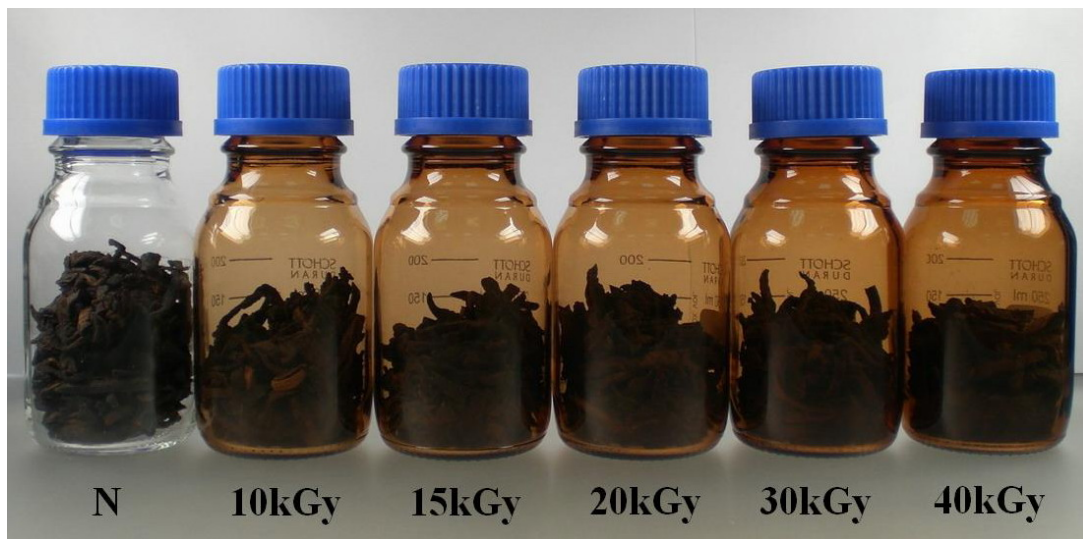
圖一、輻射照射前後之山楂，依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy、20kGy、30kGy 及 40kGy。



圖二、輻射照射前後之丹參，依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy、20kGy、30kGy 及 40kGy。



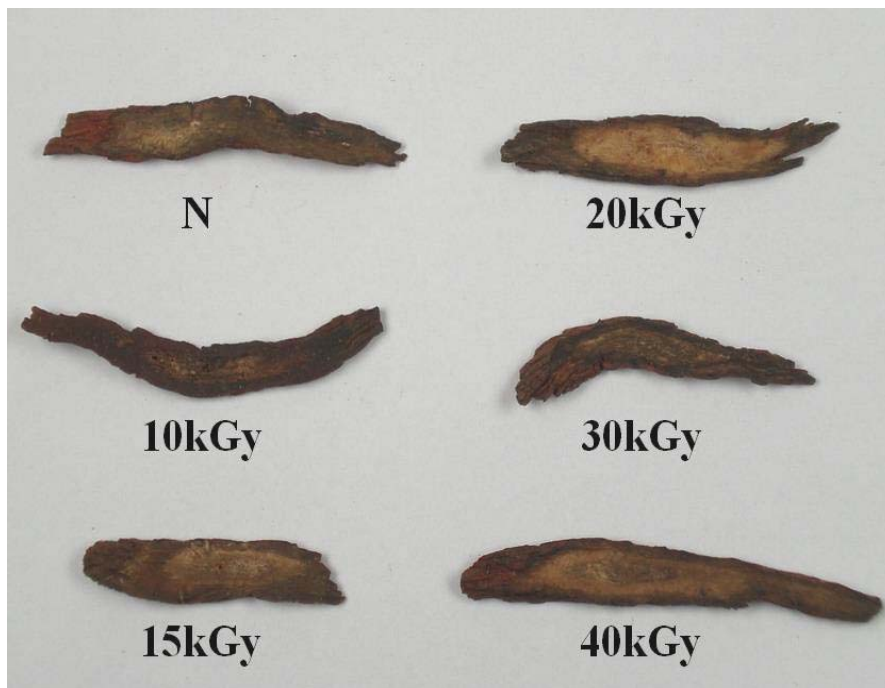
圖三、輻射照射前後之川芎，依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy、20kGy、30kGy 及 40kGy。



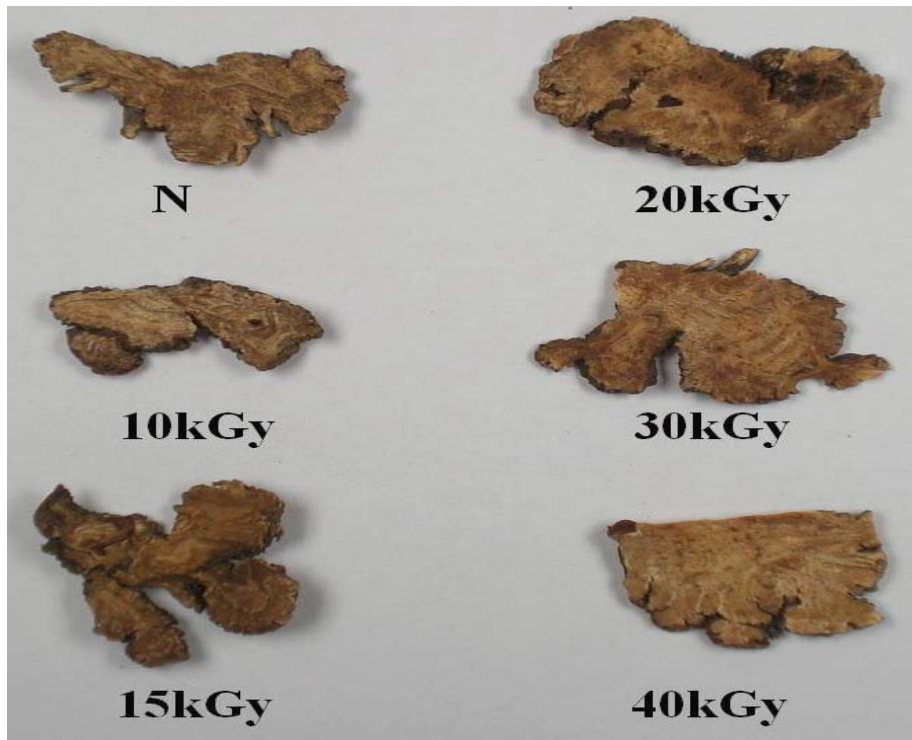
圖四、輻射照射前後之陳皮，依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy、20kGy、30kGy 及 40kGy。



圖五、輻射照射前後之山植外觀變化，左邊依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy，右邊為 20kGy、30kGy 及 40kGy。



圖六、輻射照射前後之丹參外觀變化，左邊依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy，右邊為 20kGy、30kGy 及 40kGy。



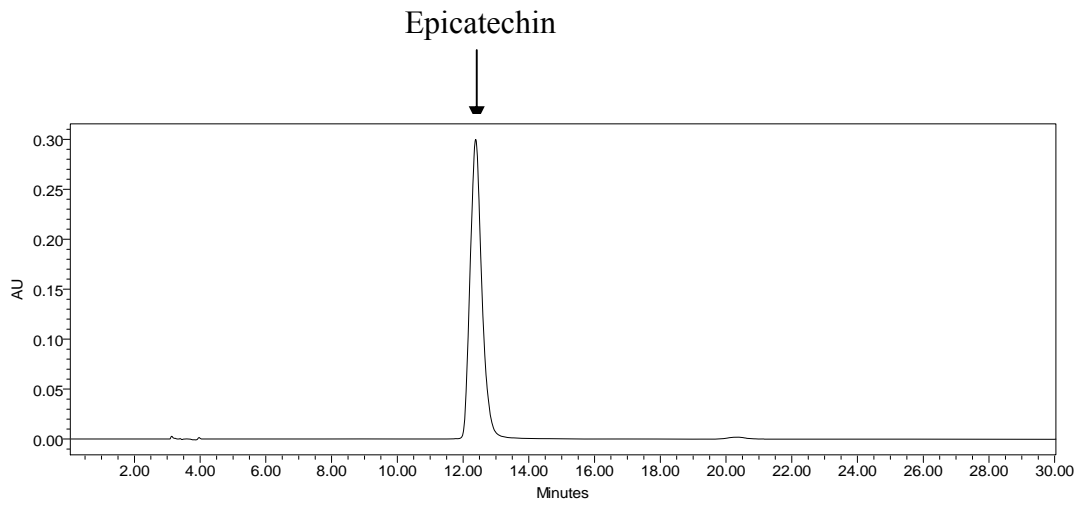
圖七、輻射照射前後之川芎外觀變化，左邊依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy，右邊為 20kGy、30kGy 及 40kGy。



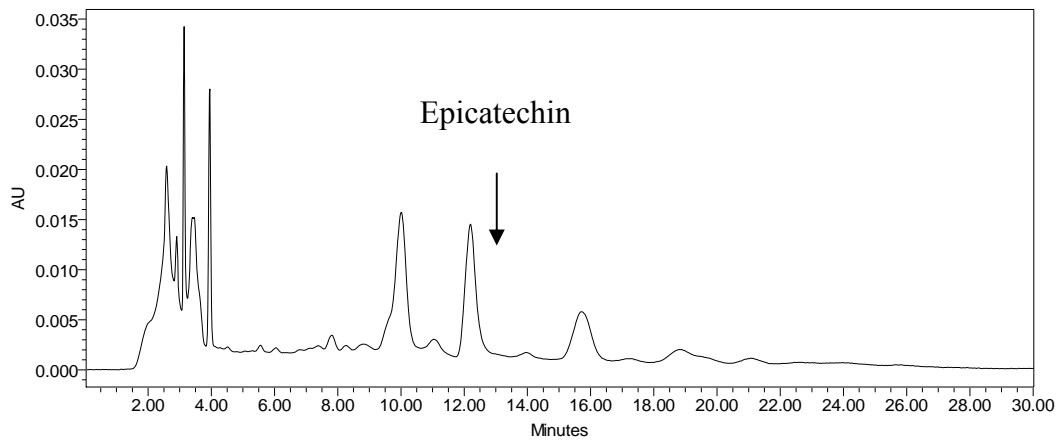
圖八、輻射照射前後之陳皮外觀變化，左邊依次為未照射輻射、照射劑量 10kGy、15kGy，右邊為 20kGy、30kGy 及 40kGy。

(二) 山楂

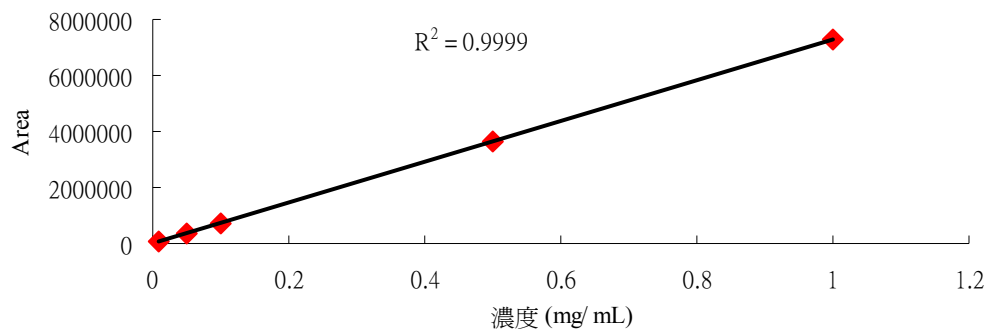
1. Epicatechin standard 之 HPLC 層析圖



2. 檢品之層析圖



3. 檢量線圖



4. 檢量線方程式

Standard	Concentration(mg/ mL)	Linear regression	R ²
Epicatechin	0.01~1	$y = 7 \times 10^6 - 4751.4$	0.9999

5. 檢品 Epicatechin 含量

(n=3)

輻射劑量 (kGy)	A Epicatechin 含量 (mg/ g)	RSD(%)	B Epicatechin 含量 (mg/ g)	RSD(%)	平均 Epicatechin 含量(mg/ g)
0	0.048	4.38	0.049	15.06	0.049
10	0.045	1.13	0.046	14.66	0.046
15	0.035	5.48	0.037	2.46	0.036
20	0.035	3.66	0.035	3.73	0.035
30	0.024	5.37	0.023	0.92	0.024
40	0.020	6.36	0.019	3.22	0.020

6. 單因子變異數分析 (Epicatechin 含量)

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	2.022E -03*	.907
	15.00	1.148E -02*	.000
	20.00	1.251E -02*	.000
	30.00	2.387E -02*	.000
	40.00	2.812E -02*	.000

P > 0.05 無顯著性差異，0.01 > P > 0.05 有差異，P < 0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

7. 山楂 HPLC 之再現性試驗(n=3)

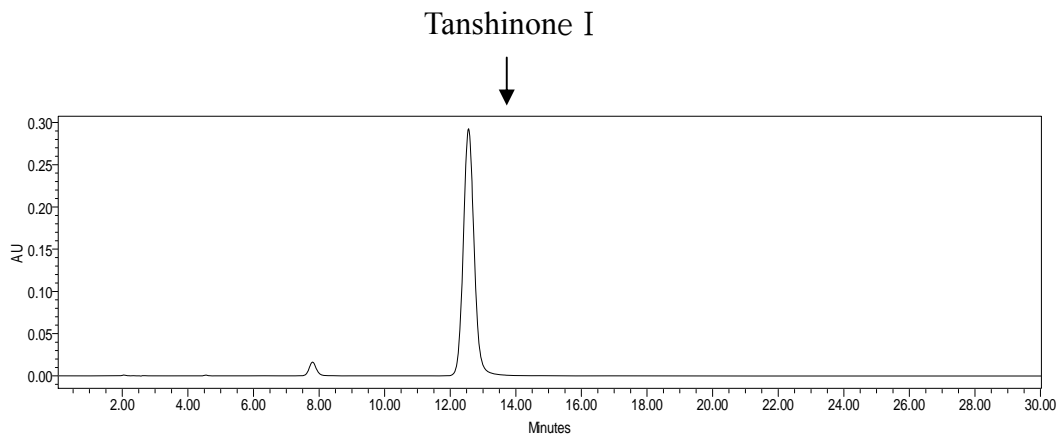
Conc. (mg/ mL)	Intraday R.S.D %	Interday R.S.D %
0.05	1.2542	0.9382
0.1	0.2220	0.2202
0.5	1.0009	0.4981

8. 回收率試驗(n=3)

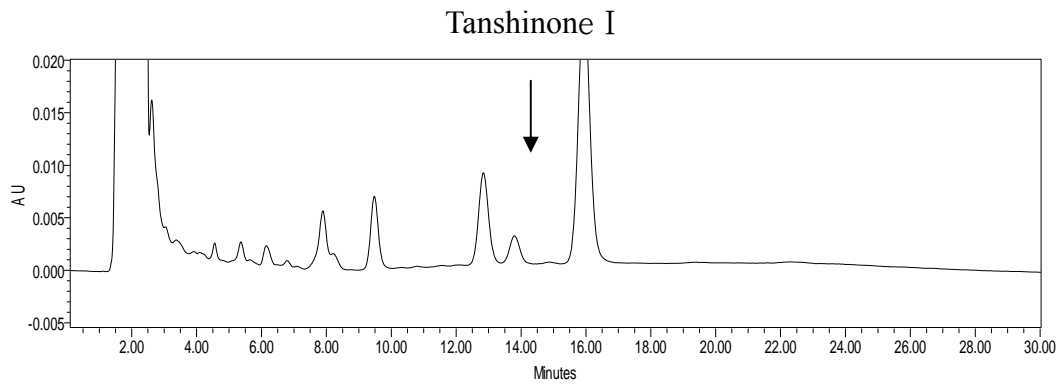
已知溶液 標準品濃度(mg/ mL)	0.5mg/ mL 標準品溶液	未照射輻射樣品
1	105.6 %	105.9 %
0.1	111.5 %	106.6 %

(二) 丹參

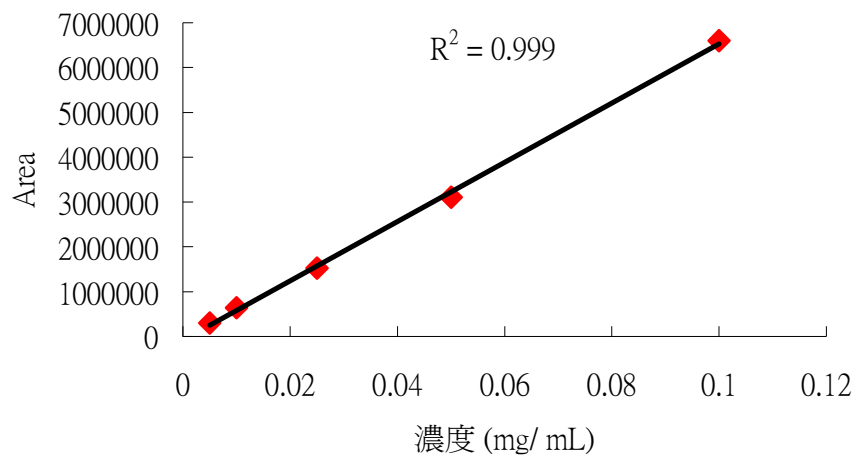
1. Tanshinone I standard 之 HPLC 層析圖



2. 檢品之層析圖



3. 檢量線圖



4. 檢量線方程式

Standard	Concentration(mg/ mL)	Linear regression	R ²
Tanshinone I	0.05~0.1	$y = 7 \times 10^7 - 78542$	0.999

5. 檢品 Tanshinone I 含量 (n=3)

輻射劑量 (kGy)	A Tanshinone I 含量(mg/ g)	RSD(%)	B Tanshinone I 含量(mg/ g)	RSD(%)	平均 Tanshinone I 含量(mg/ g)
0	0.0042	0.41	0.0043	5.27	0.0043
10	0.0044	0.68	0.0045	0.9	0.0045
15	0.0046	0.26	0.0041	0.19	0.0044
20	0.0045	0.17	0.0043	0.84	0.0044
30	0.0044	0.32	0.0044	0.80	0.0044
40	0.0042	0.14	0.0043	0.22	0.0043

6. 單因子變異數分析 (Tanshinone I 含量)

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	-1.976667E-04	.227
	15.00	-6.833333E-05	.969
	20.00	-1.260000E-04	.700
	30.00	-1.560000E-04	.482
	40.00	1.600000E-05	1.000

P > 0.05 無顯著性差異，0.01 > P > 0.05 有差異，P < 0.05 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

7. 丹參 HPLC 之再現性試驗(n=3)

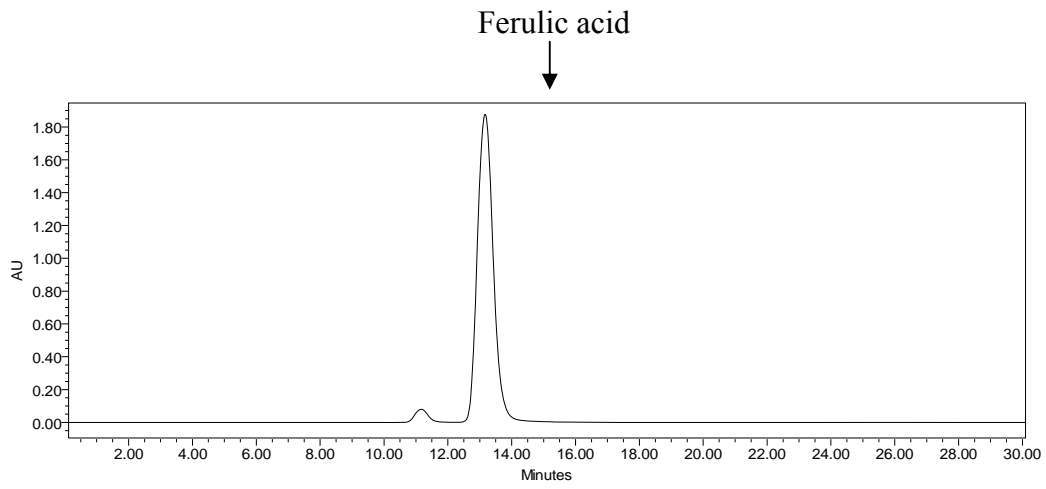
Conc. (mg/ mL)	Intraday R.S.D %	Interday R.S.D %
0.01	1.5714	0.8087
0.025	1.2420	0.5783
0.05	0.6887	0.9813

8. 回收率試驗(n=3)

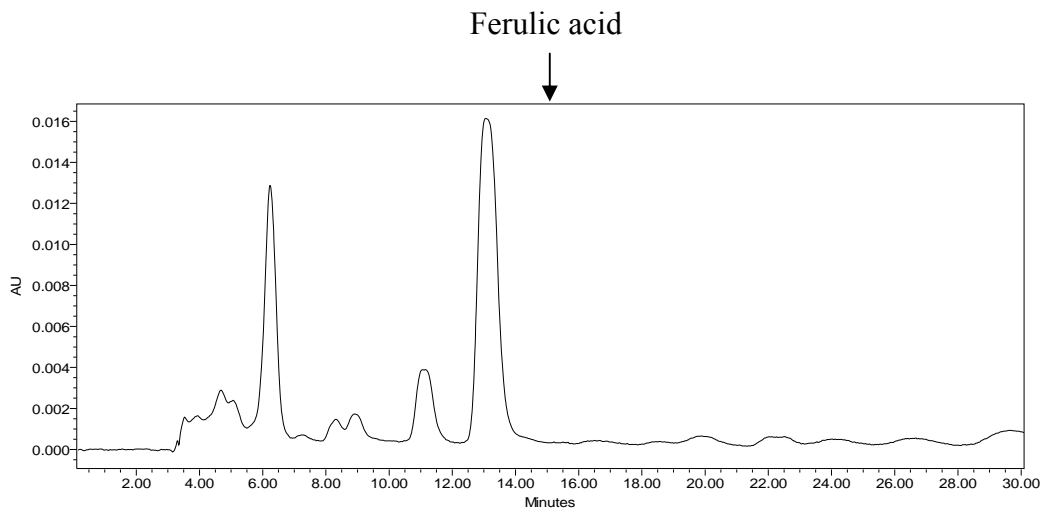
已知溶液 標準品濃度(mg/ mL)	0.05mg/ mL 標準品溶液	未照射輻射樣品
0.1	100.2 %	103.0 %
0.005	95.5 %	96.6 %

(三) 川芎

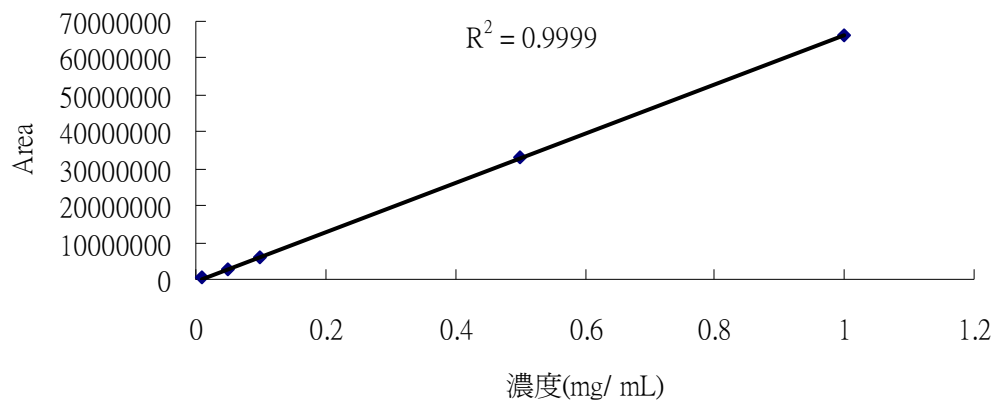
1. Ferulic acid standard 之 HPLC 層析圖



2. 檢品之層析圖



3. 檢量線圖



4. 檢量線方程式

Standard	Concentration(mg/ mL)	Linear regression	R ²
Ferulic acid	0.01~1	$y = 7 \times 10^7 - 438584$	0.9999

5. 檢品 Ferulic acid 含量

(n=3)

輻射劑量(kGy)	A Ferulic acid 含量(mg/ g)	RSD(%)	B Ferulic acid 含量(mg/ g)	RSD(%)	平均 Ferulic acid 含量(mg/ g)
0	0.0186	1.83	0.0187	0.88	0.0187
10	0.0176	0.41	0.0186	0.86	0.0181
15	0.0169	0.32	0.0180	1.81	0.0175
20	0.0163	1.02	0.0176	0.75	0.0170
30	0.0160	0.48	0.0168	1.68	0.0164
40	0.0137	1.91	0.0162	0.54	0.0150

6. 單因子變異數分析 (Ferulic acid 含量)

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	5.448333E-04	.903
	15.00	1.176500E-03	.237
	20.00	1.677000E-03*	.028
	30.00	2.210667E-03*	.002
	40.00	3.621667E-03*	.000

P > 0.05 無顯著性差異，0.01 > P > 0.05 有差異，P < 0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

7. 川芎 HPLC 之再現性試驗(n=3)

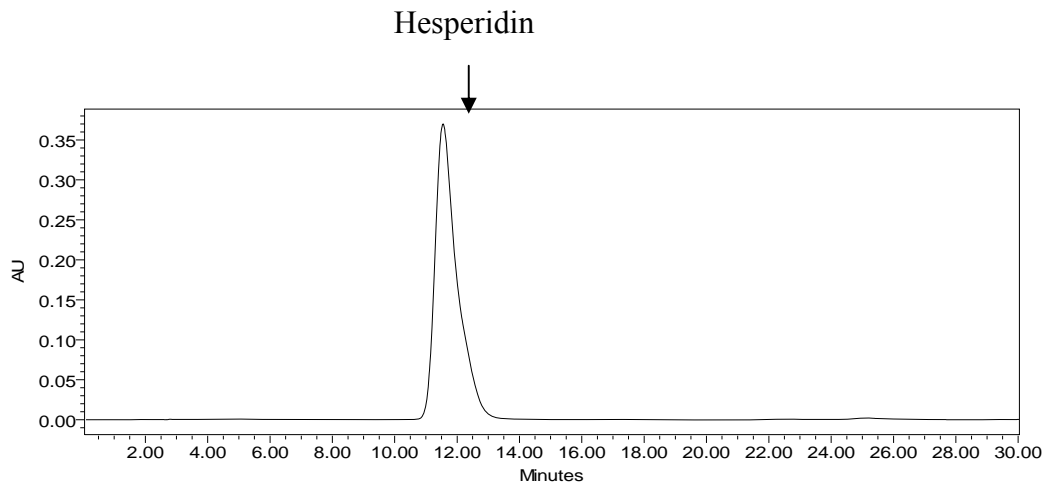
Conc. (mg/ mL)	Intraday R.S.D %	Interday R.S.D %
0.05	0.6778	1.0931
0.1	0.8090	2.3974
0.5	1.1460	4.7177

8. 回收率試驗(n=3)

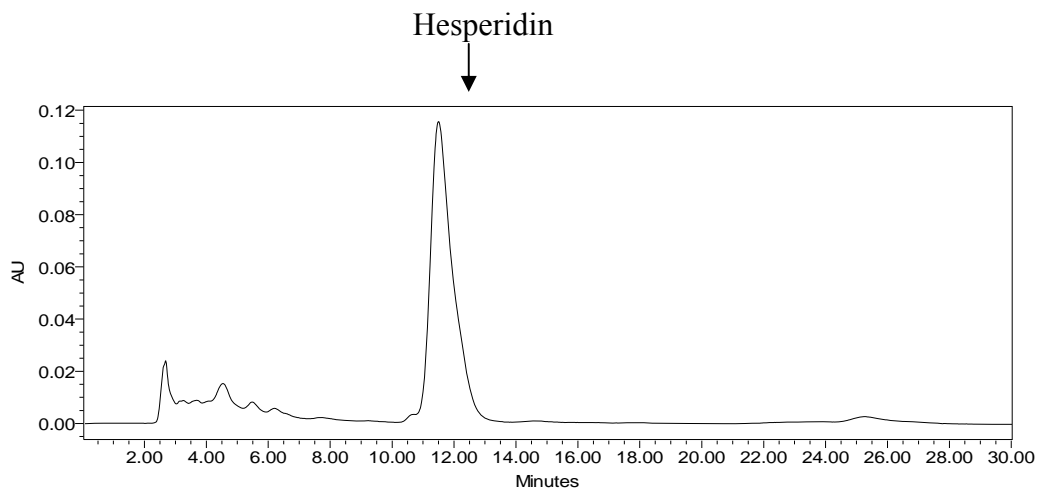
已知溶液 標準品濃度(mg/ mL)	0.5mg/ mL 標準品溶液	未照射輻射樣品
1	106.1 %	96.6 %
0.1	98.5 %	100.1 %

(四) 陳皮

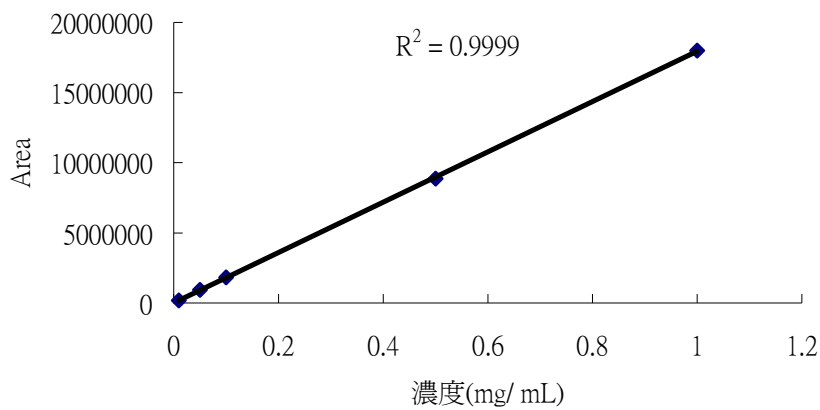
1. Hesperidin standard 之 HPLC 層析圖.



2. 檢品之層析圖



3. 檢量線圖



4. 檢量線方程式

Standard	Concentration(mg/ mL)	Linear regression	R ²
Hesperidin	0.01~1	$y = 2 \times 10^7 + 5874.3$	0.9999

5. 檢品 Hesperidin 含量

(n=3)

輻射劑量 (kGy)	A Hesperidin 含量(mg/ g)	RSD(%)	B Hesperidin 含量(mg/ g)	RSD(%)	平均 Hesperidin 含量(mg/ g)
0	0.29	0.31	0.34	0.27	0.31
10	0.22	0.24	0.32	0.41	0.27
15	0.27	0.45	0.24	0.75	0.26
20	0.27	0.07	0.24	0.47	0.26
30	0.27	0.42	0.30	0.88	0.28
40	0.25	0.60	0.29	0.84	0.27

6. 單因子變異數分析 (Hesperidin 含量)

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	4.22627E-02	.334
	15.00	5.87438E-02	.068
	20.00	5.79981E-02	.074
	30.00	3.15097E-02	.652
	40.00	4.43365E-02	.283

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

7. 陳皮 HPLC 之再現性試驗(n=3)

Conc. (mg/ mL)	Intraday R.S.D %	Interday R.S.D %
0.05	0.6207	2.1666
0.1	0.3509	3.1175
0.5	0.4714	2.4426

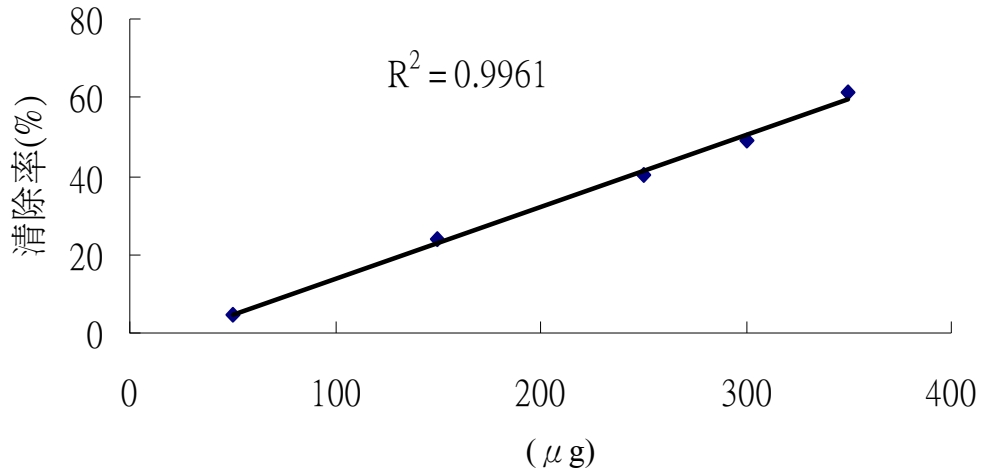
8. 回收率試驗(n=3)

已知溶液 標準品濃度(mg/ mL)	0.5mg/ mL 標準品溶液	未照射輻射樣品
1	104.3 %	96.8 %
0.01	101.9 %	96.7 %

二、不同劑量之輻射滅菌後之抗氧化活性變化評估

(一) DPPH 自由基清除能力

1. Scavenging effect (%) of the α -tocopherol



2. DPPH 自由基清除率

輻射劑量 (kGy)	DPPH 自由基之平均清除率(%)			
	山楂 (2.5 mg/ mL)	丹參 (1 mg/ mL)	川芎 (10 mg/ mL)	陳皮 (10 mg/ mL)
N	48.62	24.15	39.81	11.75
10	38.81	19.08	34.67	13.55
15	38.54	19.32	33.22	11.03
20	35.20	19.26	31.63	12.76
30	33.12	19.38	31.62	13.51
40	32.80	19.10	29.68	11.60

3. 單因子變異數 Scheffe 法分析 (DPPH 自由基清除率)

(1) 山楂

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	10.1067*	.036
	15.00	10.1517*	.035
	20.00	13.5117*	.002
	30.00	15.4950*	.000
	40.00	13.6050*	.002

$P > 0.05$ 無顯著性差異, $0.01 > P > 0.05$ 有差異, $P < 0.05$ 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品, 各 3 次分析共 6 次的結果, 所作之分析

(2) 丹參

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	4.6433*	.017
	15.00	4.7517*	.014
	20.00	4.8450*	.011
	30.00	4.6150*	.018
	40.00	4.3017*	.033

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

(3) 川芎

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	5.0083	.523
	15.00	6.6967	.211
	20.00	8.2833	.066
	30.00	8.2600	.067
	40.00	7.6417	.109

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

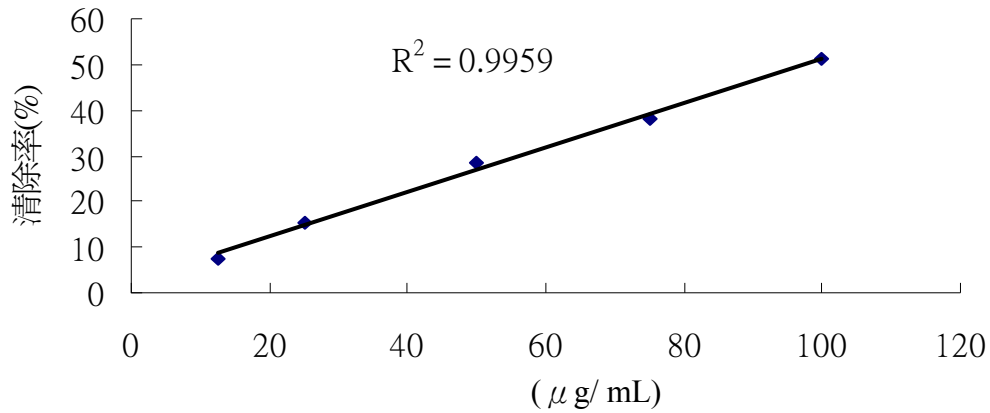
(4) 陳皮

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	-1.8055	.432
	15.00	0.7222	.975
	20.00	-1.0111	.900
	30.00	-1.7573	.463
	40.00	0.1444	1.000

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

(二) Trolox 等價抗氧化能力試驗

1. Trolox equivalent antioxidant capacity



2.

輻射劑量 (kGy)	Trolox 等價抗氧化能力之平均清除率(%)			
	山楂 (0.5 mg/ mL)	丹參 (0.5 mg/ mL)	川芎 (2 mg/ mL)	陳皮 (5 mg/ mL)
N	34.40	27.36	35.93	47.41
10	31.23	16.75	34.81	46.09
15	30.92	16.10	34.98	45.38
20	29.41	16.16	34.64	44.79
30	28.42	15.97	34.40	44.83
40	24.43	15.21	34.35	42.36

3. 單因子變異數 Scheffe 法分析(Trolox 等價抗氧化能力試驗)

(1) 山楂

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	3.6901*	.020
	15.00	3.9922*	.009
	20.00	5.3722*	.000
	30.00	6.3660*	.000
	40.00	10.3582*	.000

P > 0.05 無顯著性差異，0.01 > P > 0.05 有差異，P < 0.05 有顯著性差異
 利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

(2) 丹參

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	10.6817*	.000
	15.00	11.2667*	.000
	20.00	11.3283*	.000
	30.00	11.3300*	.000
	40.00	12.2150*	.000

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

(3) 川芎

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	0.8633	.931
	15.00	0.8217	.943
	20.00	1.3583	.667
	30.00	1.3400	.680
	40.00	1.3950	.641

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

(4) 陳皮

(I) kGy	(J) kGy	平均差異(I-J)	顯著性(P)
0.00	10.00	1.3213	.995
	15.00	2.0299	.963
	20.00	2.6255	.894
	30.00	2.5852	.900
	40.00	5.0556	.332

P>0.05 無顯著性差異，0.01>P>0.05 有差異，P<0.05 有顯著性差異
利用 A、B 兩檢品，各 3 次分析共 6 次的結果，所作之分析

三、召開產官學編審小組會議

本計畫與另兩個子計畫於 96 年 6 月 5 日假行政院衛生署中醫藥委員會召開產官學編審會議，另外也邀請各級中藥公會理事長共同參與，以達到教育與宣導之目的。第一場於 95 年 9 月 9 日假弘光科技大學舉行，第二場於 95 年 12 月 10 日假高雄市立凱旋醫院進行，第三場於 96 年 6 月 5 日假行政院衛生署中醫藥委員會進行，第四場於 96 年 12 月 24 日假國立清華大學原科中心舉辦之，會議記錄及照片如附件一。

肆、討論

台灣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。 ^{60}Co γ 射線輻射滅菌作為一種新的消毒滅菌方法，已被收入美國藥典，台灣藥典對此還沒有記載，但大量研究已證實其對中藥及製劑的滅菌效果，尤其對揮發性、熱敏性中藥材及蜜丸的滅菌，表現出它的優越性。它可用於已包裝密封的中成藥消毒滅菌，是各步驟都完成後的“最終消毒”，可防止了再次污染，但 ^{60}Co γ 射線輻射滅菌會引起個別中成藥的化學成分生物活性的變化，在應用中劑量的選擇非常重要，應以最小的劑量達到最大的滅菌效果，來保證藥物品質。

本年度選定之中藥材山楂、丹參、川芎及陳皮，經分裝後送至清華大學原科中心照射不同劑量之輻射，同一輻射劑量分別照射 A 及 B 兩瓶。萃取方式均利用甲醇作為溶劑配合超音波震盪器來萃取，經濃縮定容過濾後作為檢品。在利用高效液相層析方法中，以表兒茶素作為山楂中指標成分，經參考前人之研究再加以修飾後，選定利用乙腈及水作為流動相，來進行分離，並利用檢量線算出其表兒茶素之含量。結果發現與未照射輻射之樣品比較，輻射照射過之表兒茶素含量變化為隨著輻射劑量愈高其的含量愈低，並利用單因子變異數 Scheffe 法分析，結果指出山楂不同輻射照射劑量組間之 P 值除 10 kGy 輻射劑量 P 值 >0.05 無顯著性差異外，其他輻射劑量之 P 值均 <0.05 ，就統計上而言，未照射輻射與照射 15 kGy、20 kGy、30 kGy、40 kGy 輻射劑量之各組間表兒茶素含量變化有顯著性的差異，其中以 40 kGy 表兒茶素含量為最低。丹參中的主要指標成分丹參酮 I，經參考前人之研究再加以修飾後，選定利用水與甲醇作為流動相進行分離，並利用檢量線算出其丹參酮 I 之含量。結果發現與未照射輻射之樣品比較，含量變化較小也沒有特定之趨勢，經利用單因子變異數 Scheffe 法分析後，丹參不同輻射照射劑量組間之 P 值 >0.05 均無顯著性差異。川芎中主要指標成分為阿魏酸，經參考前人之研究再加以修飾後，選定利用甲醇及 0.05% 磷酸水溶液作為流動相，來進行分離，並利用檢量線算出其阿魏酸之含量。結果顯示其阿魏酸含量隨著輻射劑量愈高其含量愈低，經利用單因子變異數 Scheffe 法分析後，川芎不同輻射照射劑量組間之 P 值除 10 kGy 及 15 kGy 輻射劑量 P 值 >0.05 無顯著性差異外，其他輻射劑量之 P 值均 <0.05 ，就統計上而言，未照射輻射與照射 20 kGy、30 kGy、40 kGy 輻射劑量之各組間阿魏酸含量變化有顯著性的差異，其中以 40 kGy 其阿魏酸含量為最低。陳皮

中主要成份為橙皮苷，經參考前人之研究再加以修飾後，選定利用甲醇及 1 % 磷酸水溶液作為流動相，結果發現照射輻射與未照射輻射之樣品比較，含量變化較小也沒有特定之趨勢，經利用單因子變異數 Scheffe 法分析後，陳皮不同輻射照射劑量組間之 P 值 >0.05 均無顯著性差異。

在抗氧化活性方面，使用與 HPLC 相同之未經輻射照射及經不同輻射劑量照射的樣品。山楂、丹參、川芎與陳皮利用甲醇作為溶劑配合超音波震盪器來萃取，經濃縮至乾後作為檢品。比較未經輻射照射及經不同輻射劑量照射後之山楂檢品，在 DPPH 自由基清除能力方面，所有經輻射照射之檢品隨著劑量愈高其清除力愈差，以 40 kGy 為最低，經單因子變異數 Scheffe 法分析，結果顯示輻射滅菌後之山楂 $P < 0.05$ 有顯著性差異，其中又以 40 kGy 為最明顯。丹參在 DPPH 自由基清除能力方面，所有經輻射照射之檢品隨著劑量愈高其清除力愈差，但各輻射劑量間差距很小，以 40 kGy 為最低，經單因子變異數分析，結果顯示丹參不同輻射照射劑量組間之 P 值 < 0.05 ，代表未照射輻射與照射不同輻射劑量之各組間之 DPPH 自由基清除能力有顯著性的差異。川芎在 DPPH 自由基清除能力方面，所有經輻射照射之檢品隨著劑量愈高其清除力愈差，以 40 kGy 為最低，經單因子變異數分析，結果顯示川芎照射不同輻射劑量之各組間之 P 值 > 0.05 ，代表未照射輻射與照射 10、15、20、30 及 40 kGy 輻射劑量之 DPPH 自由基清除能力沒有顯著性的差異。陳皮 DPPH 自由基清除能力與輻射劑量沒有一定之趨勢，經統計分析結果顯示陳皮照射不同輻射劑量之各組間之 P 值 > 0.05 ，代表未照射輻射與照射 10、15、20、30 及 40 kGy 輻射劑量之 DPPH 自由基清除能力沒有顯著性的差異。Trolox 等價抗氧化能力試驗，在山楂中實驗數據顯示所有經輻射照射之檢品其 ABTS 陽離子自由基清除率均有下降之趨勢，與 DPPH 之結果相同，經單因子變異數 Scheffe 法分析，結果顯示 10、15、20、30 及 40 kGy 輻射滅菌後之山楂有顯著性的差異。丹參之實驗數據顯示所有經輻射照射之檢品其 ABTS 陽離子自由基清除率均有下降之趨勢，隨著照射劑量愈高其清除率愈差，以 40 kGy 為最低，經單因子變異數 Scheffe 法分析後，結果顯示丹參各輻射劑量與未照射輻射相比有顯著性之差異，此結果與 DPPH 自由基清除率之結果相符合。川芎之實驗數據顯示，其 ABTS 陽離子自由基清除率均較未照射輻射之檢品來得低，但與未照射之檢品比較差距不大，經單因子變異數 Scheffe 法分析，結果顯示川芎各輻射劑量與未照射輻射相比沒有顯著性差異。陳

皮 ABTS 陽離子自由基清除率隨著輻射劑量愈高其清除率愈差，經單因子變異數 Scheffe 法分析，顯示陳皮照射不同輻射劑量之各組間之 P 值 >0.05 ，代表未照射輻射與照射 10、15、20、30 及 40 kGy 輻射劑量之 ABTS 陽離子自由基清除率沒有顯著性的差異。

伍、結論

山楂、丹參與川芎經 10 kGy, 15 kGy, 20 kGy, 30 kGy 及 40 kGy 不同劑量輻射照射後，其所含之指標成分含量經 Scheffe 法分析後得知，在山楂指標成分含量部分，顯示未照射輻射與各照射劑量間之指標成分含量變化有顯著性的差異；丹參指標成分含量部份，結果發現與未照射輻射之樣品比較，丹參不同輻射照射劑量組間之 P 值 >0.05 均無顯著性差異，川芎中之指標成分含量除 10 及 15 kGy 外，其他均有顯著性差異；陳皮指標成分部分，結果發現與未照射輻射之樣品比較，陳皮不同輻射照射劑量組間之 P 值 >0.05 均無顯著性差異。

比較不同劑量之輻射滅菌及未經輻射處理藥材甲醇抽出物，對 DPPH 自由基清除能力抗氧化活性變化及 Trolox 等價抗氧化能力評估，經由單因子變異數分析 Scheffe 法，多重比較，山楂及丹參所有照射劑量之檢品 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 等價抗氧化能力均較未照射之檢品來的低，結果顯示照射輻射之各組與未照射輻射相比，均有顯著性的差異。川芎 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 等價抗氧化能力均較未照射之檢品來的低，經由單因子變異數分析 Scheffe 法分析結果顯示未照射輻射之各組與未照射輻射相比，均沒有顯著性的差異。陳皮 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 等價抗氧化能力，經由單因子變異數分析 Scheffe 法分析結果顯示未照射輻射之各組與未照射輻射相比，均沒有顯著性的差異。

陸、參考文獻

1. 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。
2. 林宜信主編，台灣中醫藥發展策略與成果-行政院衛生署中醫藥委員會成立 10 週年特輯，行政院衛生署中醫藥委員會編印，台北，pp.284-345，2005。
3. 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.
4. 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.
5. Chou, F. I., Chung, H. P., Wen, H. W., Chen, C. T. and Chang, C. G. 2001. The sterilization of Astragali Radix with gamma-ray irradiation. *Nucl. Sci. J.*, 38: 271-278.
6. 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.
7. 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.
8. Chou, F. I., Wen, H. W. and Chung, H. P. 2005. The Effect of Gamma Irradiation on Microbial Decontamination and Chemical and Sensory Characteristic of Lycium Fruit. *Radiation Physics and Chemistry.* 75: 593-603.
9. Chou, F. I. 1998. Pollen Gamma-ray Irradiation. *Nucl. Sci. J.*, 35, 165-171.
10. Loaharanu, P. 1994. Cost/Benefit Aspects of Food Irradiation. *Food Technol.*, 48: 104-108.
11. 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.

12. 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.
13. 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.
14. Takehisa, M. and Ito, H. 1986. Experiences of Food Irradiation in Japan. *Food Rev. Int.*, 2: 19.
15. Thakur, B. R. and Singh, R. K. 1994. Food Irradiation-Chemistry and Applications. *Food Rev. Int.*, 10: 437-473.
16. 孔令杰、鄭麗珍，1996， ^{60}Co - γ 射線輻照養護動物類藥材初探。中藥材，19(8)：404。
17. 胡馨、劉幼君，1998，HPLC 法測定安息相在 ^{60}Co - γ 射線輻照前後肉桂酸的含量。中成藥，20(10)：42。
18. 楊德泉、錢淑、章榮，1997， ^{60}Co - γ 射線輻照三種中藥成分的影響研究。基層中藥雜誌，11(4)：36。
19. 泮紅玲，2005，生藥乾燥滅菌法與輻射滅菌法的比較。醫藥導報，24(4)：334。
20. 李繼珊，2002， ^{60}Co 輻照對中成藥滅菌效果的檢測。中國消毒學雜誌，19(1)：36-38。
21. UNIDO. 1984. Guidelines for commercial plantation and manufacture of medicinal and aromatic plants.
22. 行政院衛生署公告，中華民國 94 年 7 月 27 日署授藥字第 0940003835 號。
23. 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.
24. 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.
25. Yu, Y. B., Jeong, I. Y., Park, H. R., Oh, H., Jung, U., Jo, S. K. 2004. Toxicological safety and stability of the components of an irradiated Korean medicinal herb, *Paeoniae Radix*. *Radia. Phys. Chem.*, 71: 117-121.
26. 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.
27. Cottee, J., Kunstadt, P. and Fraser, F. 1995. Commercialization of Food Irradiation in the USA. *Radia. Phys. Chem.*, 46: 669-672.
28. Ehlermann, D. A. E. 1995. Dosimetry and Identification as a Tool for Official Control of Food Irradiation. *Radia. Phys. Chem.*, 46: 693-698.
29. Mayermiebach, E. 1993. Food Irradiation-A Means of Controlling Pathogenic Microorganisms in Food. *Food Sci. Technol.-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie.*, 26: 493-497.
30. 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.
31. 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.
32. 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 florae contaminating medicinal plants. *Appl. Radiat. Isot.*, 48: 71-76.
33. Aziz, N. H., Refia, M. K. and Abd El-Aal, S. S. 1990. Occurrence of aflatoxin and aflatoxigenic molds in coffee beans and decontamination by gamma-irradiation. *J. Egypt Vet. Med. Ass.*, 49: 951-961.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
 38. 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.
 39. Pietranera, M. S. A., Narvaiz, P., Horak, C. and Kairiyama, E. 2003. Irradiated ice creams for immunosuppressed patients. *Radia. Phys. Chem.*, 66: 357-365.
 40. 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.
 41. 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.
 42. Wang, J., Du, Y. S. 2005. The effect of gamma-ray irradiation on the drying characteristics and final quality of dried potato slices. *Int. J. Food Sci. Technol.* 40 (1): 75-82.
 43. 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.
 44. 行政院衛生署，中華中藥典，行政院衛生署中華中藥集編修小組，台北，2004；pp.7-8, 17, 23-24, 52-53, 54, 116-117, 126-127, 148-149, 163-164。
 45. Cui, T., Li Jian-Zhong, Kayahara, H., Ma, L., Wu, Li-Xia, and Nakamura, K. 2006. Quantification of Polyphenols and Triterpene Acids in Chinese Hawthorn Fruit by High-Performance Liquid Chromatograph. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 4574-4581.
 46. 行政院衛生署藥物食品檢驗局，中藥檢驗方法專輯(九)—中藥濃縮製劑指標成分定量方法，台北，1996；pp.16-19, 60-62, 63-65, 70-73, 294-295, 343-344。

47. 咸紅，HPLC 法測定丹參超臨界萃取物中丹參酮 IIA 的含量，實用醫技雜誌，2006，13(3)：387-389。
48. 劉洋、石任兵、劉斌、宋文婷，丹參藥材化學成分 HPLC 指紋圖譜研究，北京中醫藥大學學報，2006，29(3)：188-192。
49. 姜舜堯，HPLC 法測定 2 種含陳皮中成藥中的橙皮苷的含量，中成藥 2001；8：612-614。
50. Kyoung Soon Kim. 2003. Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *Journal of Ethnopharmacology.*, 85: 69–72。
51. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine.*, 26(9-10): 1231-1237.