

鈷六十加馬射線在中藥材儲存條件之研究與 評估

Evaluation and application of ^{60}Co - γ irradiated sterilization on Chinese medicine

中台醫護技術學院

姚 俊 旭

摘 要

本研究目地主要是設定不同劑量的加馬射線照射，依據優先管制之中藥材品項所列之二十種中藥材為研究評估對象，試圖尋找出加馬射線照射的最佳參數。經由此研究，除了能完全明瞭中醫藥材是否會因輻射照射而產生性質變化之外，若更進一步能利用此方法，對國內外中醫藥業提供一簡單而經濟之滅菌及保存方式，則除了能克服中藥材生菌發黴之困擾，更能對中醫藥材達到品質控制之要求。

依據優先管制之中藥材所列之二十種中藥材為研究評估，包含：黃耆、白朮、熟地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、牡丹皮、茯苓、梔子、柴胡、當歸、白芍、薄荷、生薑、甘草、虎杖、敗醬草、枳實、紫草及骨碎補，以同一時間向同一中藥商訂購中藥生材，以確保中藥之來源與性質一致性，再將中藥生材分成實驗組及對照組進行包裝與滅菌處理，滅菌處理完畢後將中藥生材以不同貯存方式保存三個月之後進行後續之化學成份分析與菌量檢測之實驗評估。而中藥之萃取步驟均依據文獻之記載條件進行，所得之萃取液將以進行 UV-VIS、HPLC 及 FTIR 之化學分析。

加馬射線照射前後菌量檢測結果顯示，並非所有中藥生材均須一定劑量之加馬射線，由實驗結果可發現大部份的中藥生材經過 3kGy 之照射後均可達到滅菌之效果。而不同貯存條件之中藥生材菌量檢測結果發現，無論是一般貯存方式或冷凍貯藏，經過三個月後經菌量檢測及化學分析結果顯示均未發現有變化，針對中藥生材之滅菌處理前後之化學成份分析實驗評估方面，結果顯示經過加馬射線照射之中藥生材並非均不產生化學成份之變化。

關鍵詞：加馬射線、照射滅菌、化學成份分析、菌量檢測

Department of Radiological Technology, Chung-Tai Institute of
Health Science and Technology

Chun-Hsu Yao

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the feasibility of radiation sterilization using the isotope ^{60}Co gamma ray on Chinese medicine. Through this research, we can understand if the property of Chinese medicine is affected by the radiation. Further more, we can use this method to provide a simple and economic way for conservation and sterilization of herbal medicine.

Twenty herbal medicines were studied in this study, including Radix Astragali, Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Radix Rehmanniae, Assagei, Rhizoma Dioscoreae, Rhizomz Alismatis, Cortex Moutan, Poria, Fructus Gardeniae, Radix Bupleuri, Radix Angelicae Sinensis, Radix Paeoniae Alba, Herba Menthae, Rhizoma Zingiberis Recens, Radix Glycyrrhizae, Rhizoma Polygoni Cuspidati, 敗醬草, Fructus Aurantii Immaturus, Radix Arnebiae Seu Lithospermi, and Rhizoma Drynariae. We bought these herbal medicines from the same local store to assure their properties are about the same. We then divided these medicines into two groups, i.e.,

the sterilization group and the controls. After 3 months of storage, these medicines were analyzed using the UV-VIS, HPLC, and FTIR.

As a result, we found that nearly all the medicines were sterilized after the irradiation treatment of 3 kGy. Compounds and functional groups in these Chinese medicines were not changed by the irradiation treatment. However, minor changes were found in the molecular structures of some of the medicines before and after the irradiation.

Keywords : Gamma-ray; Sterilization; Chinese medicine

壹、前言

隨著科學技術的日新月異，人類因而能不斷地改善生活品質，近年來，由於醫學技術的不斷提升，中醫藥材的品質要求也日益嚴謹，然而，傳統中醫藥材的滅菌及保存方式，並無法達到臨床應用上的須求，常因黴菌及細菌的滋生而影響治療效果，進而影響中藥生材之經濟價值，故尋求一合適及經濟的滅菌與保存方式，乃是目前中醫藥研究人員最為關切之課題[1-3]。

中醫藥材品種繁多，性質各異，而且量大質雜，因為傳統上對於藥材的處理方式相當簡劣，特別容易發黴變質，例如：曝曬、高溫烘乾、石灰乾燥、木炭乾燥、密封乾燥及冷藏防黴等[4-9]，均無法對中醫藥材達到妥善的保存，而且就不同部位或不同種類的藥材更有不同的保存處理方式，不只費時又無經濟效益，因此現代對中藥材的滅菌保存方式有許多的研究與改進，例如：遠紅外線乾燥法、微波乾燥法、冷凍乾燥法、混合氣體儲藏法及環氧乙烷等方法，可是這些方法之常因穿透性不足，無法對植物性中藥材之根、莖、果種等深層部位徹底殺菌，或是因處理方式會造成藥材性質變化，或揮發性及對熱敏感之有效成分之流失，甚至於會有滅菌藥劑殘存於中藥材中，更是會造成臨床應用上的危險[2,4,5,6,7]。

而輻射照射乃是利用放射性元素釋出高能量的加馬射線(γ -ray)，進行各種物質的照射，而加馬射線是能量的一種形式，只是能量較高，波長較短，穿透

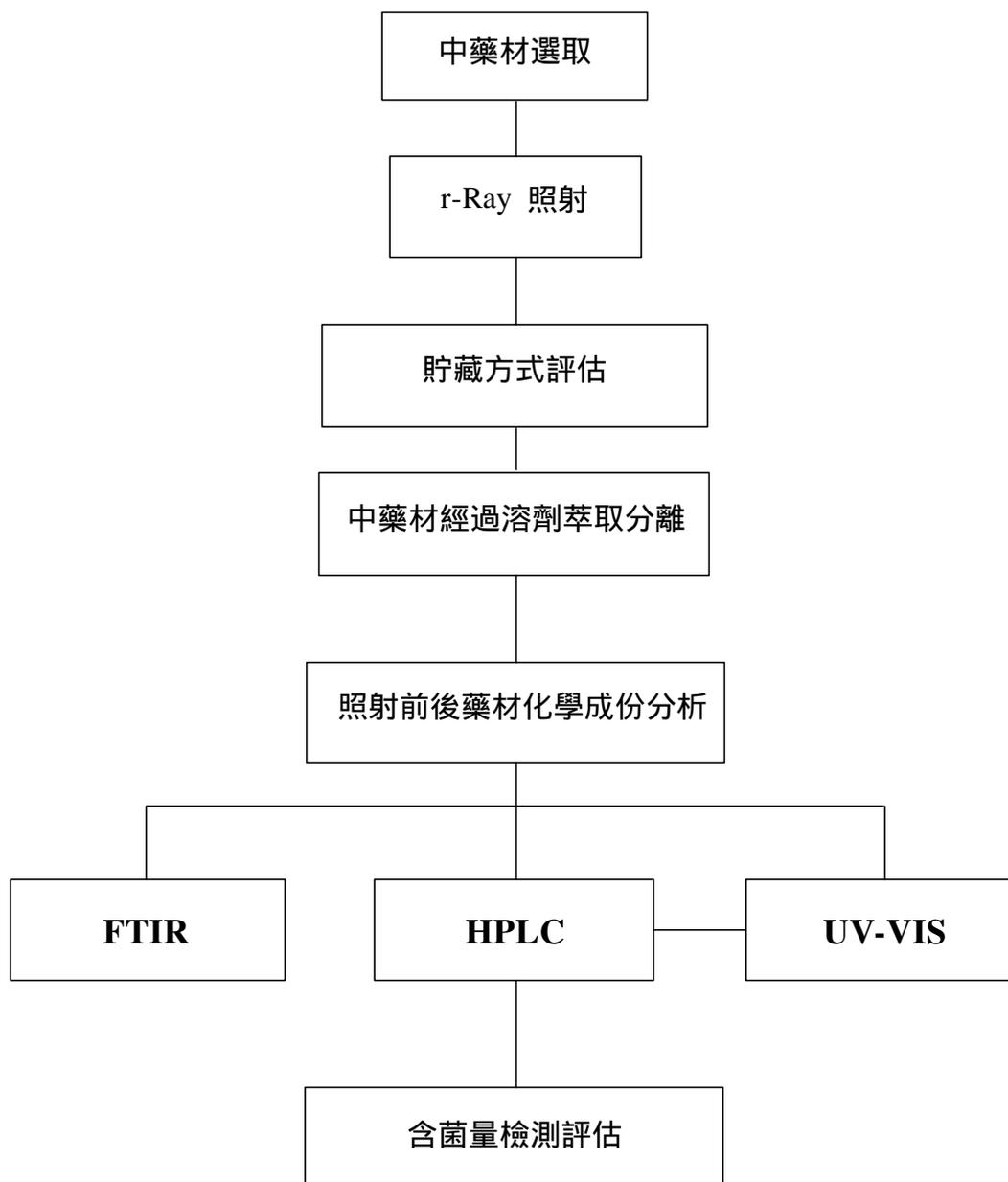
力也較強，並不會有放射線的殘留，而且加馬射線並不會造成熱效應造成揮發性及對熱敏感之有效成分之流失。因此，本研究為了克服目前對中醫藥材的滅菌與貯藏的不便性，期望利用加馬射線做為對中醫藥材滅菌及保存之新方法，其目的地主要是設定不同劑量的加馬射線照射，依據優先管制之中藥材品項所列之二十種中藥材為研究評估對象[2]，試圖尋找出加馬射線照射的最佳參數[10-11]，並藉由兩種不同貯存方式一般乾燥與冷凍貯存比較是否會影響滅菌後之中藥材之保存。經由此研究，除了能完全明瞭中醫藥材是否會因輻射照射而產生性質變化之外[12-16]，若更進一步能利用此方法，對國內外中醫藥業提供一簡單而經濟之滅菌及保存方式，則除了能克服中藥材生菌發黴之困擾，更能對中醫藥材達到品質控制之要求[17-19]。

對於加馬射線在於民生應用上，乃根據不同劑量的選取而有不一樣的應用方式，例如在生物醫學上的應用方面，於醫療器材消毒滅菌，必需選擇 25kGy 以下的劑量，而於人造皮膚的消毒滅菌則為 20kGy 以下，矽膠等生醫材料的熟化處理即以 20kGy 以下的劑量照射，因此對於中醫藥材的處理更須審慎選取照射之劑量，根據文獻報告的描述，利用 2.0kGy 以下的加馬射線照射處理後的中醫藥材並無法達到完全滅菌之效果[20,21]，然而選擇過強劑量的照射，更可能因藥材本身性質的改變而影響治療效益，另 FAO/IAEA/WHO 組織收集了全世界研究數據後，已宣布在 10kGy 以下照射殺菌為安全的方法，不致產生毒性或致癌物質，沒有安全顧慮，不需進行動物實驗，因此本研究乃選擇 3、6、9kGy 之加馬射線做為照射之劑量。

植物體中所含的化學組成是中醫藥材的有效成份，因此本研究對於藥材的輻射照射前後性質的變化與否，便利用下述幾種重要的化學分析方法鑑定；利用 FTIR 吸收光譜儀及高效能液相層析儀(HPLC)，進行藥物中化合物及重要官能基之鑑定，而為了更進一步鑑定中輻射滅菌是否可達滅菌消毒效果，乃利用在無菌培養室中，直接進行菌量檢測實驗，將培養皿放置培養箱中兩天之後，取出培養皿於顯微鏡下觀察，以評估達到完全滅菌之照射劑量[22]。

貳、材料與方法

1. 本研究實驗流程如圖所示。



圖一 實驗流程圖

2. 實驗材料

依據優先管制之中藥材品項所列之二十種中藥材為研究評估對象。為黃耆、白朮、熟地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、牡丹皮、茯苓、梔子、柴胡、當歸、白芍、薄荷、生薑、甘草、虎杖、敗醬草、枳實、紫草及骨碎補等。

3. 藥材 α -射線照射處理方法

3-1 控制組

本研究實驗最主要的目地，是評估利用 α -射線在中藥生材滅菌之可行性，及與傳統處理方式之比較，因此以傳統方法處理的中藥生材為實驗之對照組。

3-2 實驗組

在實驗組方面，本研究所使用的 α -射線照射劑量除了參考文獻資料之外，更依據核能所於輻射照射在生物醫學上應用所使用的計劑量，設定三種不同的照射劑量，分別為：3kGy、6kGy、9kGy 等三個劑量，更進一步探討不同照射計量與中藥生材滅菌程度之評估。

3-3 一般乾燥貯存及冷藏之貯存方式比較

本研究期望以適當的材質做為包裝材質，包裝處理後再進行加馬射線照射處理，因此若包裝及照射處理可達最適化條件，則中藥生材受微生物污染，並滋長之現象即可避免。並以一般貯存與冷凍貯存進行比較，於貯存時段達三個月後，取出進行成份分析與菌量檢測。

4. 藥材溶劑萃取處理

將經過傳統處理或是以 α -射線照射之中藥生材，先以無菌封套儲存，再各取 250g，加入 10 倍量的去離子水，為 2500ml，經過加熱煎煮一小時，利用濾網過濾，收集藥液，再加入等體積的去離子水繼續煎煮一小時，同樣地，經過過濾的處理，再收集於試管中，並置於 4 的冰箱中備用，以進行後續之 UV-VIS、HPLC 及 FTIR 化學分析等實驗評估。

5. 中藥生材成份分析

植物體中所含的化學成分，是植物體在遺傳控制下一系列生理活動和生物化學變化的生物活性物質、貯藏物質以及代謝產物。化學成份的種類和數量受

遺傳基因與環境兩個方面的支配與影響，亦是常用來做為鑑定植物品種和品質的一種標記，因此，本研究對於中藥生材輻射照射前後性質的變化與否的確應定，便利用下述幾種重要的化學儀器分析方法加以鑑定。

5-1 紫外光-可見光吸收儀測定(UV-VIS)

取上述所製備的藥液每組各 1ml，分別加入乙醇 20ml，置於振盪器上振盪 1 小時，再經過濾紙過濾，取濾液 5ml 加入乙醇稀釋至 25ml，然後利用 UV-VIS 吸收光譜儀，進行藥物中化合物及重要官能基之鑑定[22]，而 UV-VIS 之分析之結果最主要做為後續 HPLC 分析之偵測器波長設定之依據。

5-2 高效能液相層析分析(HPLC)

在藥理上，對於藥物的成份分析，無論定性或是定量的分析，高效能液相層析儀(HPLC)是最廣泛被應用的儀器，本研究因此將根據所分析的藥物成份，選擇不同的工作條件，針對每一組藥物中的組成成份，探討輻射前後是否有所變化，而其工作條件的調控更包括：管柱的選擇、填充物的選擇、動相溶劑的調配、流動速度、與偵檢器的選擇等[22-25]。而對於本研究所探討之幾種中藥之 HPLC 分析條件如下所述，並將詳細之資料敘述於附件七：

A. 山茱萸之條件：

1. Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 13 : 87
2. Uv : 235 nm
3. Rate : 1.0 ml/min
4. Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
5. Temp : Ambient
6. Inj vol : 20 μl
7. Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30
Rate : 0.2 ml/min
Wash overnight

B.山梔子之條件：

- 1.Mobile phase : $\text{CH}_3\text{CN} : 0.1 \% \text{H}_3\text{PO}_4 = 15.5 : 84.5$
- 2.Uv : 240nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl
- 7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30
Rate : 0.2 ml/min
Wash overnight

C.甘草之條件：

- 1.Mobile phase : $\text{CH}_3\text{CN} : 0.1 \% \text{H}_3\text{PO}_4 = 34.95 : 65.05$
- 2.Uv : 254nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl
- 7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30
Rate : 0.2 ml/min
Wash overnight

D.生薑之條件：

- 1.Mobile phase : $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} = 65 : 35$
- 2.Uv : 210nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl
- 7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

E. 白朮之條件 :

1. Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 45 : 55

2. Uv : 210 nm

3. Rate : 1.0 ml/min

4. Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5. Temp : Ambient

6. Inj vol : 20 μl

7. Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

F. 牡丹皮 Paeonol 之定量條件 :

1. Mobile phase : CH₃CN : 0.1 % H₃PO₄ = 42 : 58

2. Uv : 274nm

3. Rate : 1.0 ml/min

4. Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5. Temp : Ambient

6. Inj vol : 20 μl

7. Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

G. 芍藥之條件 :

1. Mobile phase : CH₃CN : 0.1 % H₃PO₄ = 15 : 85

2. Uv : 230nm

3. Rate : 1.0 ml/min

4. Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5. Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μ l

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

H.虎杖 Emodin 之定量條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : 2 %醋酸 = 55 : 45

2.Uv : 280 nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 \times 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μ l

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

I.枳實之條件 :

1.Mobile phase :

(0.15 % Methanol 溶於 CH₃CN) : (1 mlH₃PO₄ + 1 ml Trichthylamine
+ 998 ml MilliQ) = 19.5 : 80.5

2.Uv : 254nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 \times 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μ l

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

J.柴胡之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 40 : 60

- 2.Uv : 210 nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl
- 7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30
Rate : 0.2 ml/min
Wash overnight

K. 骨碎補之條件 :

- 1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 20 : 80
- 2.Uv : 280 nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl
- 7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30
Rate : 0.2 ml/min
Wash overnight

L. 茯苓 Pachmose 之定量條件 :

- 1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = A : B

A	30	20	10
B	70	80	90
Time	0	10	50
- 2.Uv : 254 nm
- 3.Rate : 1.0 ml/min
- 4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm
- 5.Temp : Ambient
- 6.Inj vol : 20 μl

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

M.黃耆之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 38 : 62

2.Uv : 203 nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μl

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

N.當歸之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : 0.1 % H₃PO₄ = 20 : 80

2.Uv : 320nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μl

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

O.熟地黃之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 10 : 90

2.Uv : 210 nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μ l

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

P.澤瀉之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 65 : 35

2.Uv : 208 nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 \times 250 mm

5.Teh overnight

Q.薄荷之條件 :

1.Mobile phase : CH₃CN : H₂O = 20 : 80

2.Uv : 203 nm

3.Rate : 1.0 ml/min

4.Column : Inertsil ODS-2 4.6 \times 250 mm

5.Temp : Ambient

6.Inj vol : 20 μ l

7.Wash : Acetonitrile : MQ = 70 : 30

Rate : 0.2 ml/min

Wash overnight

5-3 紅外線光譜分析儀測定(FT-IR)

為了於化學結構判斷之前，能先對可能產生變化之化學官能基先行瞭解及觀察，本研究先行將中藥萃取液進行冷凍乾燥，使萃取藥劑呈粉末狀，再利用擴散式紅外線吸收光譜儀進行官能基鑑定，除了可進一步瞭解 HPLC 分析所產生變化之化學成份，最主要為何種官能基的變化外，更可以 FTIR 之結果與 HPLC 之分析結做一比較校正。

6. 菌量檢測評估

將前述經過傳統處理及以 α -射線照射之藥材，在無菌培養室中，直接進行菌量檢測實驗，將培養皿放置培養箱中兩天之後，取出培養皿於顯微鏡下觀察，評估不同中藥生材要達到完全滅菌程度所需之照射劑量 [20,21]。

參、結果與討論

(一) 中藥生材於加馬射線照射前後 UV-VIS 分析結果

對於本研究所使用之中藥生材，於不同劑量之加馬射線照射滅菌之後，乃以前述中藥萃取之方法進行成份之萃取步驟，將所得到之萃取液收集並進行 UV-VIS 之成份鑑定。而 UV-VIS 之結果最主要乃以此結果做為 HPLC 之偵測器波長之設定以及根據 UV-VIS 之結果粗略觀察其主要成份是否會因照射加馬射線而有所改變，然由加馬照射前後中藥材萃取液 UV-VIS 之分析結果顯示並無明顯之變化產生，因此對照射前後成份分析須進一步藉由 HPLC、FTIR 定性分析判斷，如

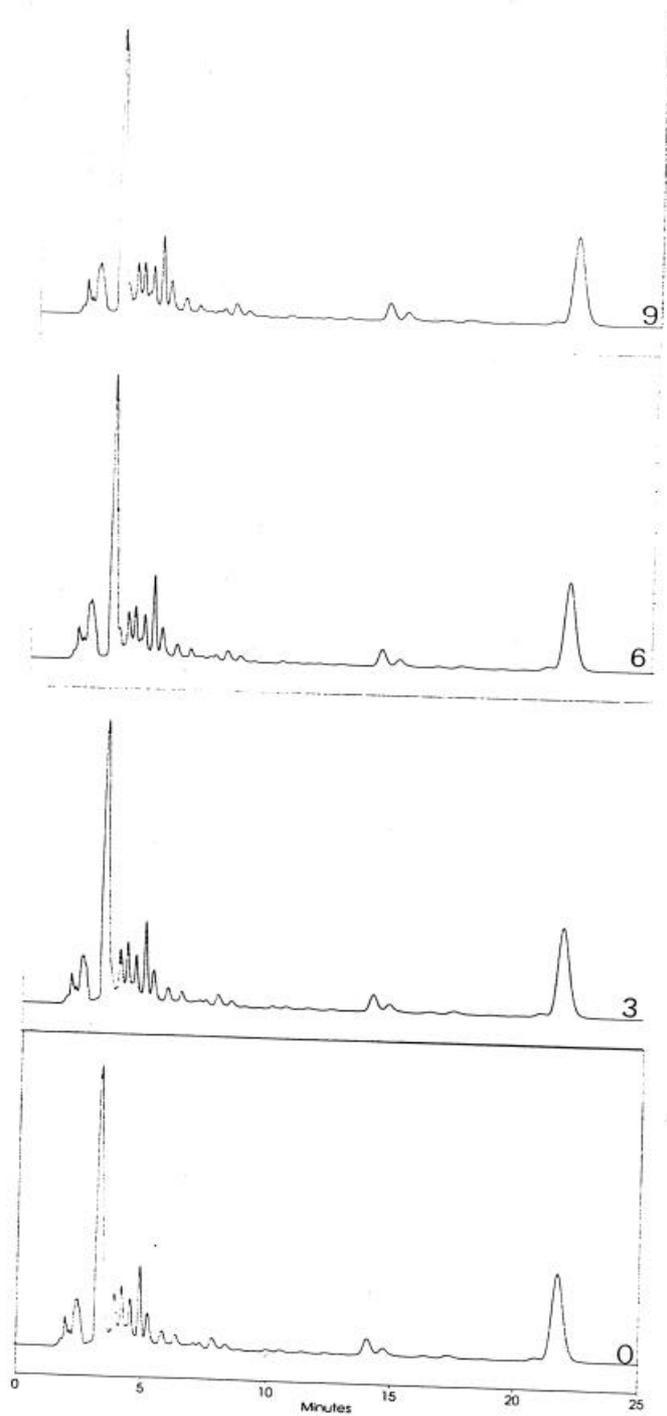
1. 山茱萸之 UV 之吸收波長為 235 nm 左右。
2. 山梔子之 UV 之吸收波長為 240nm 左右。
3. 甘草之 UV 之吸收波長為 254nm。
4. 生薑之 UV 之吸收波長為 210nm。
5. 白朮之 UV 之吸收波長為 210 nm。
6. 牡丹皮之 UV 之吸收波長為 274nm。
7. 芍藥之 UV 之吸收波長為 230nm。
8. 虎杖 UV 之吸收波長為 280 nm。
9. 枳實之 UV 之吸收波長為 254nm。
10. 柴胡之 UV 之吸收波長為 210 nm。
11. 當歸之 UV 之吸收波長為 320nm。
12. 澤瀉之 UV 之吸收波長為 208 nm。

2. 中藥生材於加馬射線照射前後 HPLC 分析結果

對於本研究所使用之中藥生材，於不同劑量之加馬射線照射滅菌之後，乃以前述中藥萃取之方法進行成份之萃取步驟，將所得到之萃取液收集並進行 HPLC 之成份分離及鑑定，評估是否中藥生材成份是否會因不同劑量之加馬射線照射後產生變化，而針對不同之中藥生材於 HPLC 分析前先根據 UV-VIS 之結果設定偵測器之波長，並以個別中藥生材之標準品進行每一種中藥生材萃取液成份之鑑定，以確定萃取步驟及儀器參數設定之正確性。

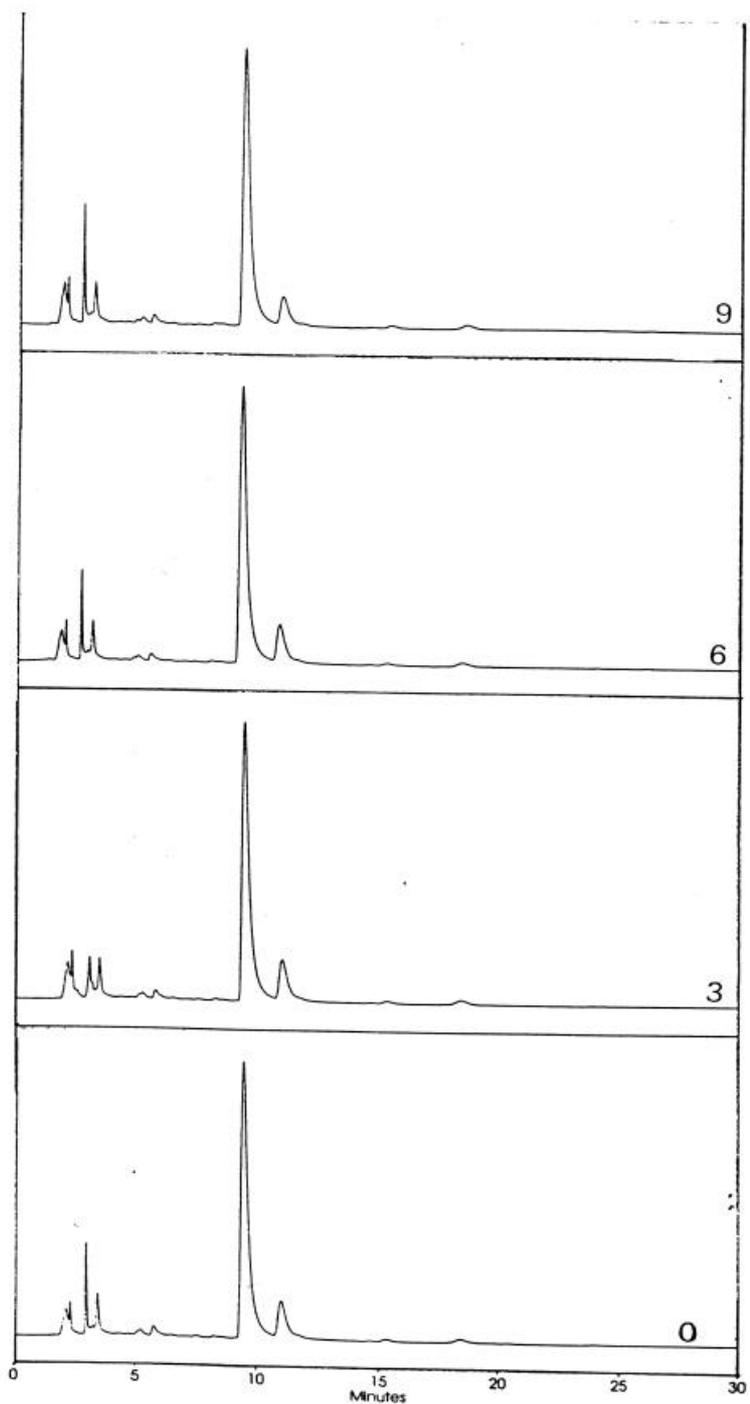
由 HPLC 之分析結果顯示，不同之中藥生材對於不同劑量之加馬射線之組成成份穩定度是不同的，有九味藥生材在本研究所設定之滅菌照射劑量下 (3kGy~9kGy) 由 HPLC 分析顯示並無明顯之改變，如甘草(圖二)、生薑、當歸(圖三)、澤瀉、熟地黃、山茱萸、柴胡、黃耆及虎杖，而且與對照組比較亦有相同之成份分析結果，然而，並非所有評估之藥材對加馬射線的穩定度均一樣，如芍藥、牡丹皮、薄荷、茯苓及山梔子(圖四)等五味中藥生材中之組成成份對射線照射之強度極為敏感，如表一所示，由實驗所設定之三個不同劑量加馬射線照射後與控制組比較，均有明顯的差異，由結果發現山梔子於 15.633 minutes 時，原照射加馬射線滅菌前有一明顯的成分波峰，然照射達 3kGy 以上可發現此波峰已消失，而薄荷於 3~4minutes 範圍亦有明顯之 peak 強度之變化產生，然而，對於薄荷之改變，最主要乃在於特定成份經加馬射線照後其吸收強度明顯下降，而無差異性波峰形成於 HPLC 之分析結果中(圖五)，因此由薄荷 FTIR 之分析(圖六)並無有差異官能基產生，而其中牡丹皮(圖七)之變化更是明顯，幾乎整個組成成份上均產生變化，如於 2.33、3.233、4.383、15.733minutes 這幾個波峰均有明顯的變化，然而，較為特殊的結果於骨碎補、枳實及白朮之分析中發現，如骨碎補(圖八)於照射劑量為 3kGy 時與控制組比較，並沒有明顯的成份變化產生，而當消毒滅菌之照射劑量提升至 6kGy 以上時，可發現於 3~5 minute 左右產生與控制組明顯的成份變化，同樣的現象於白朮及枳實中亦產生，其中白朮於照射劑量達 6kGy 以上，於 2~3 minute 產生與控制組與實驗組 3kGy 之成分分析結果之差異性，而枳實則照射劑量達 9kGy 時，於 6.4minute 產生與控制組之 HPLC 分析結果之成分差異之波峰。

甘草

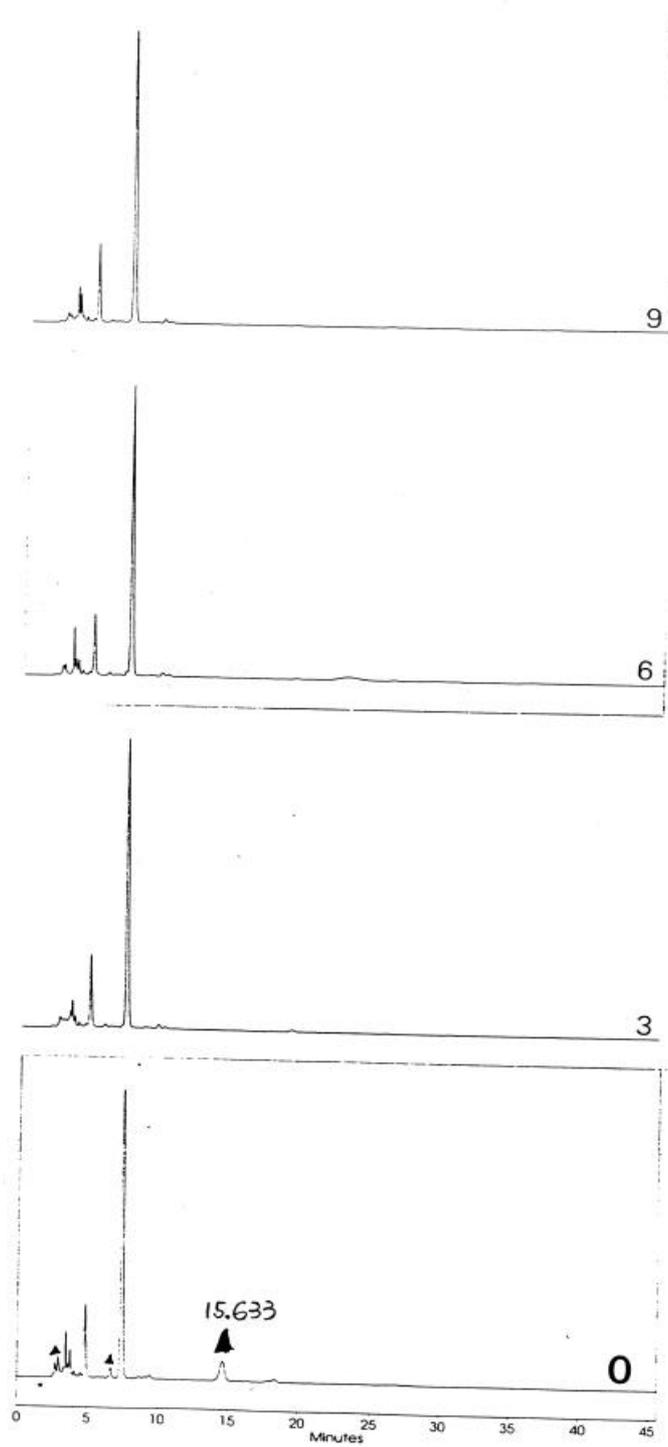


圖二 甘草 HPLC 分析之結果

當歸



圖三 當歸 HPLC 分析之結果

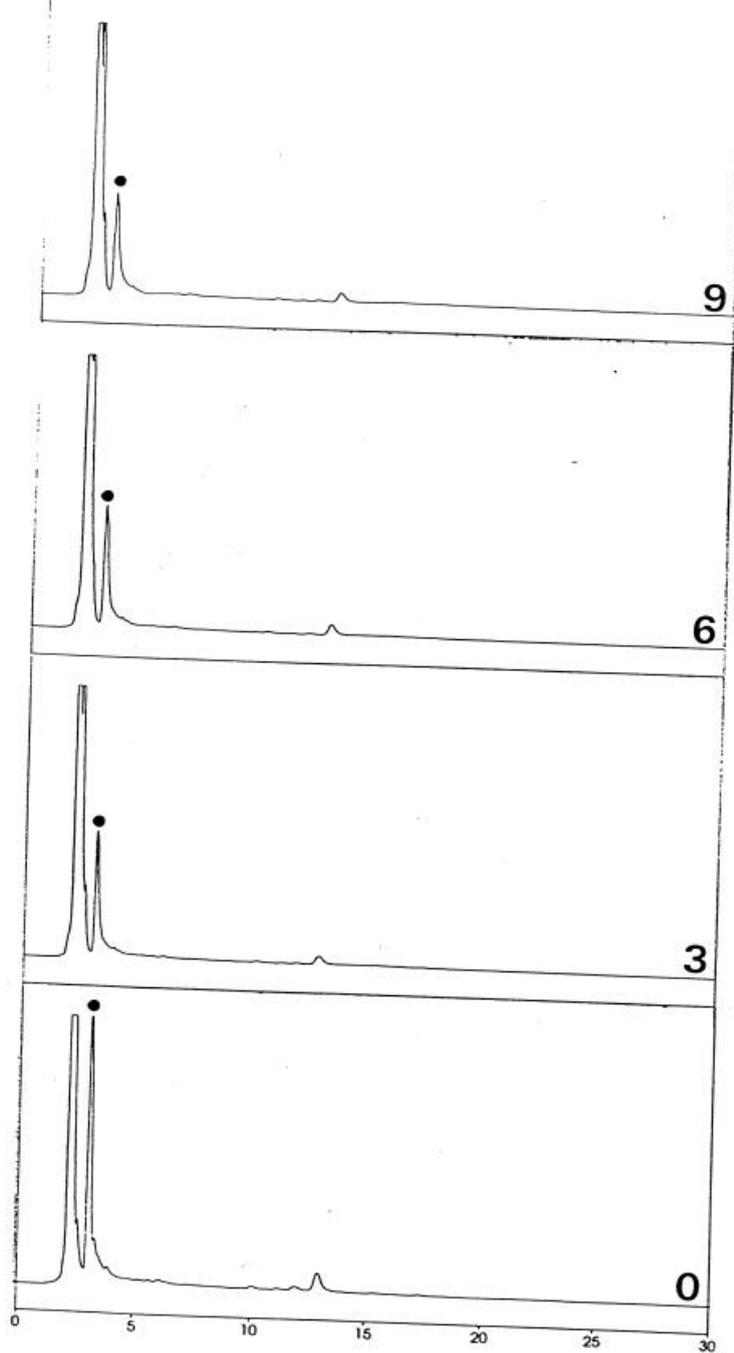


圖四 山梔子 HPLC 分析之結果

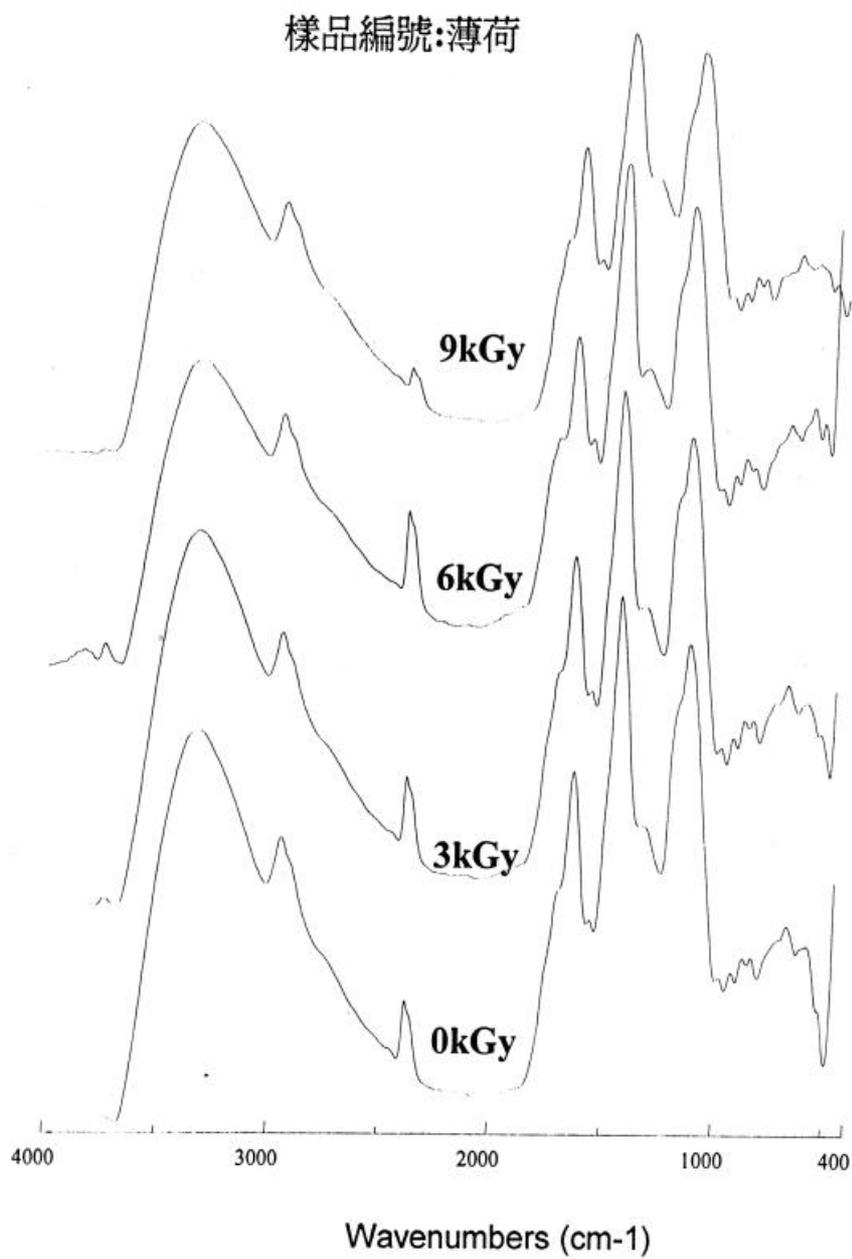
表一：HPLC 分析結果顯示實驗組與對照組成分有差異之中藥生材

中藥品名	HPLC 差異波峰	照射劑量
山梔子	15.633	3kGy~9kGy
茯苓	2.317 ; 3.567	3kGy~9kGy
牡丹皮	2.33 ; 3.233 ; 4.383 ; 15.733	3kGy~9kGy
芍藥	7.850 ; 8.383	3kGy~9kGy
薄荷	3~4	3kGy~9kGy

薄荷

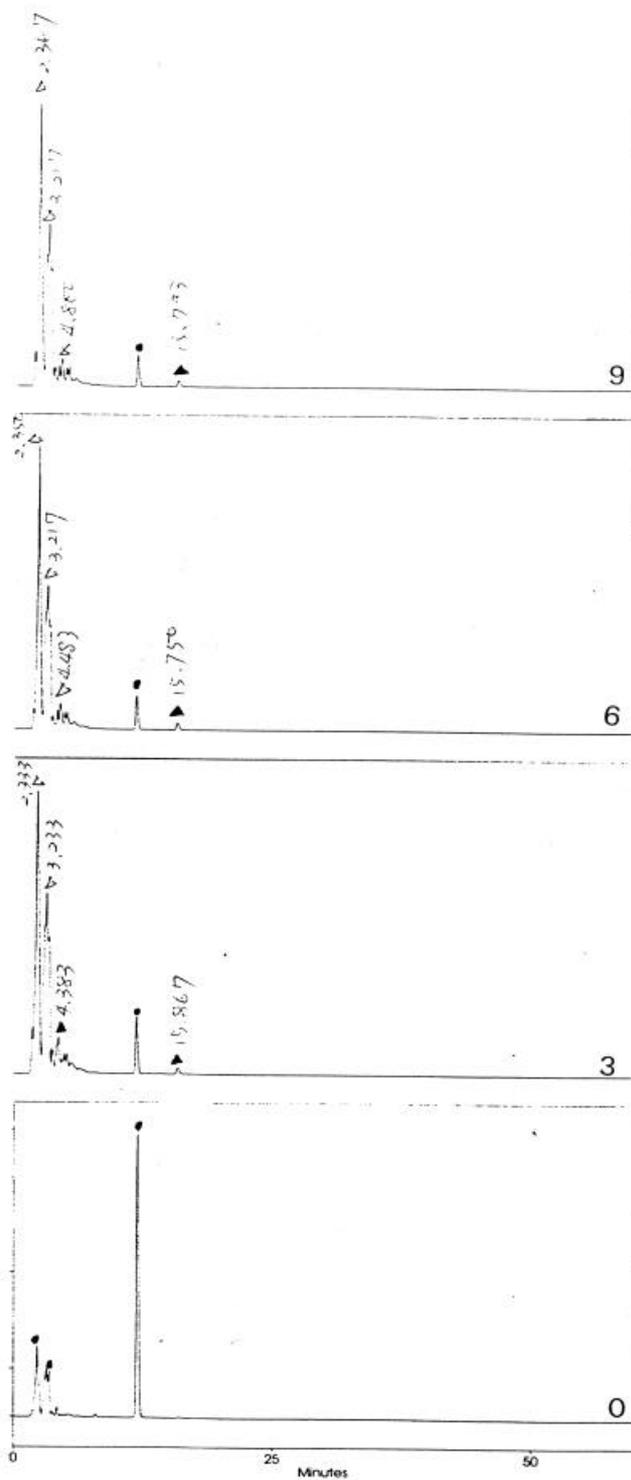


圖五 薄荷 HPLC 分析之結果



圖六 薄荷 FTIR 分析之結果

牡丹皮



圖七 牡丹皮 HPLC 分析之結果

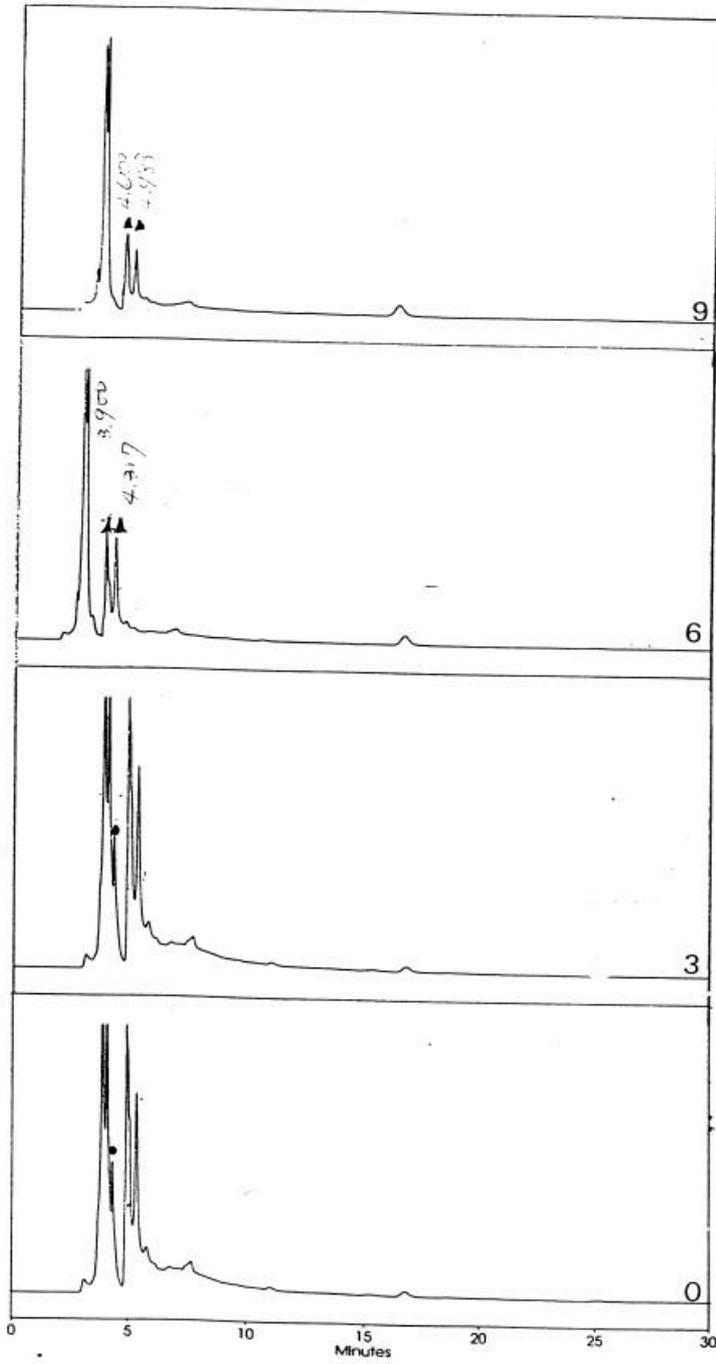
根據文獻回顧可知利用 2.0kGy 以下之劑量，照射處理後的中藥材並無法達到完全滅菌之效果，而選擇高劑量之加馬射線進行照射處理，又惟恐造成藥材成份之改變，如 1980 年 FAO/WHO/IAEA 組織對利用加馬射線進行食品照射處理規定，劑量須低於 10kGy 才不致產生毒性或致癌物質，沒有安全顧慮，不需進行動物實驗，然而，是否選擇低於 10kGy 以下之照射劑量，就可避免中藥生材照射後成份改變的困擾？由 HPLC 之分析結果顯示，利用 3kGy~9kGy 的加馬射線進行中藥生材照射，雖然可達到預期之滅菌消毒結果，但是不同之中藥生材之組成成份及化學結構，對於不同劑量之加馬射線高能量光子之穩定性是不同的，部份中藥生材中特定化學成分可能對照射之光子較為敏感，因此造成部份成份產生斷鍵解離之作用，進而產生成分上的變化，故對於加馬射線進行中藥生材之滅菌處理之過程，不同中藥生材應謹慎考量其所能接受之最佳照射劑量。

由 HPLC 之結果，雖然可初步鑑定中藥生材對加馬射線之照射前後成份變化與否，然而，於 HPLC 之分析鑑定無成份變化之中藥生材，是否其化學結構真的就沒有改變，而且於 HPLC 分析偵測結果有所改變之中藥材，其最終成份變化為何？這些疑問於 HPLC 分析是無法明確瞭解，因此需藉由 FTIR 分析及 LC-MASS 進一步鑑定，因此本研究除於計畫規畫中進行 FTIR 之分析評估外，更嘗試以 LC-MASS 進行組成成份化學結構之鑑定。

3. 中藥生材於加馬射線照射前後 FTIR 分析結果

為了進一步瞭解及鑑定中藥生材於不同劑量之加馬射線照射後其成份變化及所變化成份之化學結構為何？本研究首先乃以 NMR 進行 HPLC 所分離所得之萃取液進行分析，然而由 H^1 -NMR 或 C^{13} -NMR 分析之結果，其分析峰均即為複雜，因此無法明確鑑定其結構式，所以本研究僅先以 FTIR 進行組成成份之官能基鑑定，藉由 FTIR 之分析，希望能進一步瞭解具有何種官能基之成份會因加馬射線照產生改變，及其改變之官能基為何，因此本研究所使用之中藥生材，於不同劑量之加馬射線照射滅菌之後，乃以前述中藥萃取之方法進行成份之萃取步驟，將所得到之萃取液收集並冷凍乾燥後研磨成細小粉末，以擴散式 FTIR 進行吸收光譜分析。

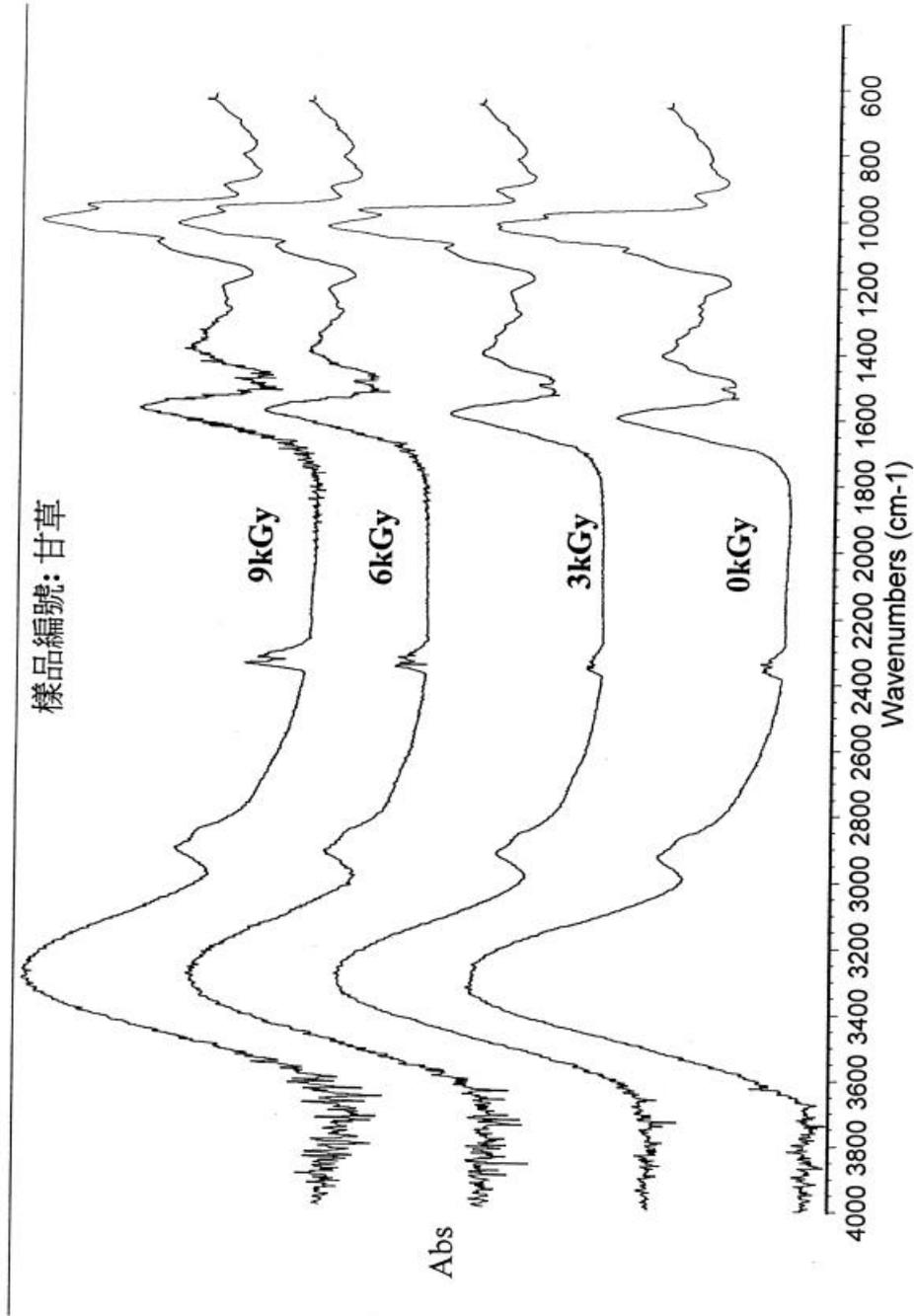
骨碎補



圖八 骨碎補 HPLC 分析之結果

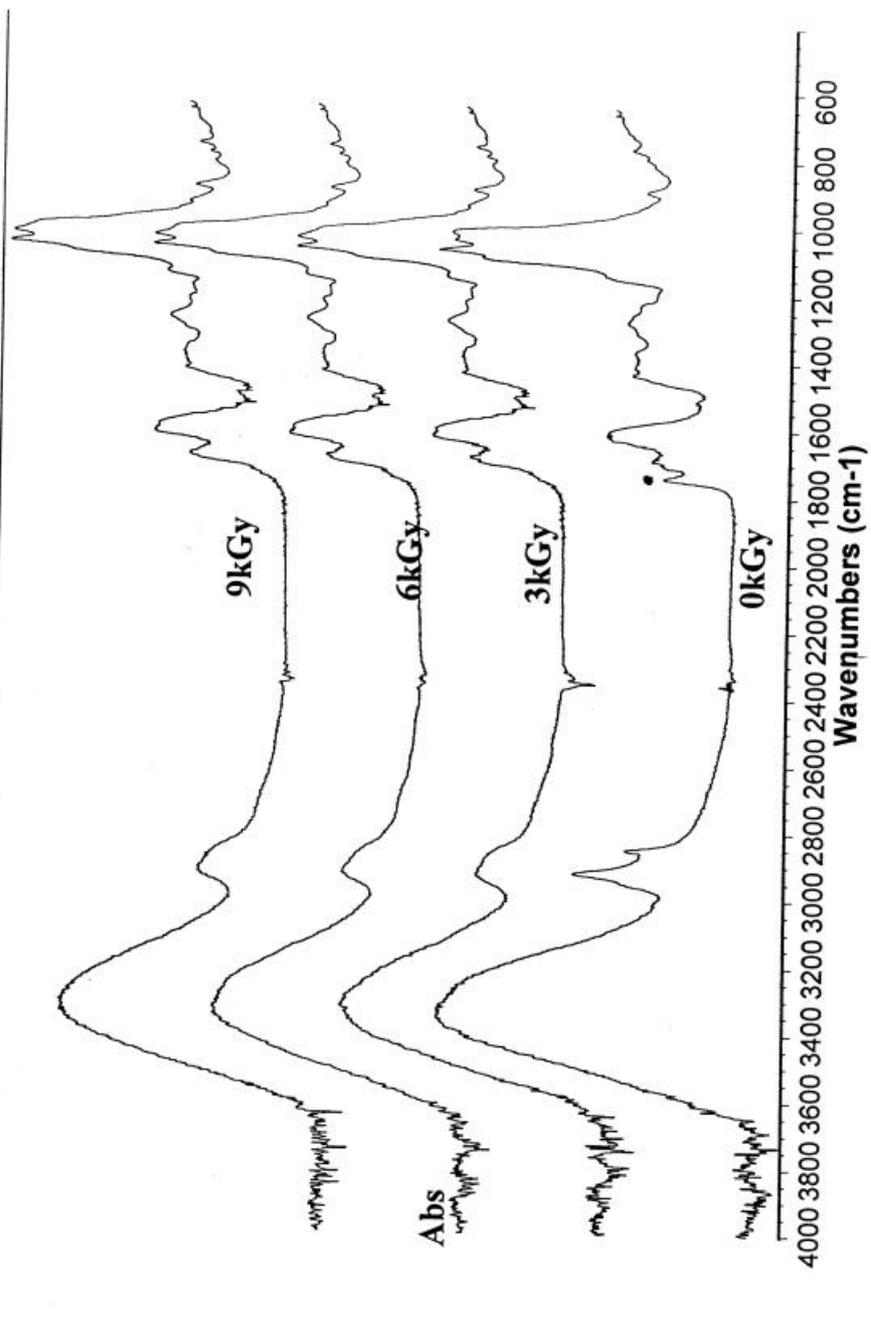
由 FTIR 結果發現，大部份的中藥生材於不同劑量之加馬射線照射後，HPLC 分析其組成成份無明顯改變者，在 FTIR 中亦有相同的結果，亦即官能基並無明顯差異，如熟地黃、甘草(圖九)、生薑、澤瀉、山茱萸、柴胡、黃耆、紫草等，同樣地，於 HPLC 分析結果發現有成份差異之幾種中藥生材，於 FTIR 分析亦得到有不同官能基形成或消失之分析結果，如山梔子(圖十)、牡丹皮(圖十一)、茯苓、枳實及白朮等。然而，於 HPLC 分析結果原本成份並無明顯變化之中藥生材，於 FTIR 分析之結果反而發現照射前後之組成成份官能基有所改變的現象，如當歸(圖十二)及虎杖這兩種藥材，當歸於 HPLC 分析中並無發現於照射滅菌前後，有不同成份改變的現象產生，如圖三所示，然而，於 FTIR 之分析卻發現當歸照射達 6kGy 以上與控制組及 3kGy 比較有明顯的差異性官能基產生於波數 $1500\sim 1750\text{cm}^{-1}$ 左右。這結果說明當歸照射前後雖於 HPLC 組成成份分離並無差異性，然而，對於 HPLC 分離並無法判斷其組成成份之官能基甚至化學結構之差異性，因此，於當歸這味藥中才產生 HPLC 與 FTIR 結果之不同。

4. 中藥生材於加馬射線照射前後及不同貯存方式菌量檢測之分析結果
加馬射線照射前後菌量檢測結果顯示(表二)，並非所有中藥生材均須一定劑量之加馬射線，由實驗結果可發現大部份的中藥生材經過 3kGy 之照射後均可達到滅菌之效果，如澤瀉、牡丹皮、茯苓、當歸、虎杖、枳實、骨碎補及芍藥(圖十三)，然而亦有些味藥是有差異性的，如黃耆(圖十四)、山藥、甘草、熟地黃、山梔子及紫草須照射達 6kGy 才達完全滅菌之效果，而最為特殊者為白朮(圖十五)與薄荷(圖十六)，其中白朮照射達 9kGy 方可完全滅菌，薄荷雖然隨照射劑量增加菌量明顯下降，但照射劑量達 9kGy 照射後於菌量檢測仍有菌的殘留，針對不同貯存條件之中藥生材菌量檢測結果發現，無論是一般貯存方式或冷凍貯藏，經過三個月後經菌量檢測均未發現有變化。

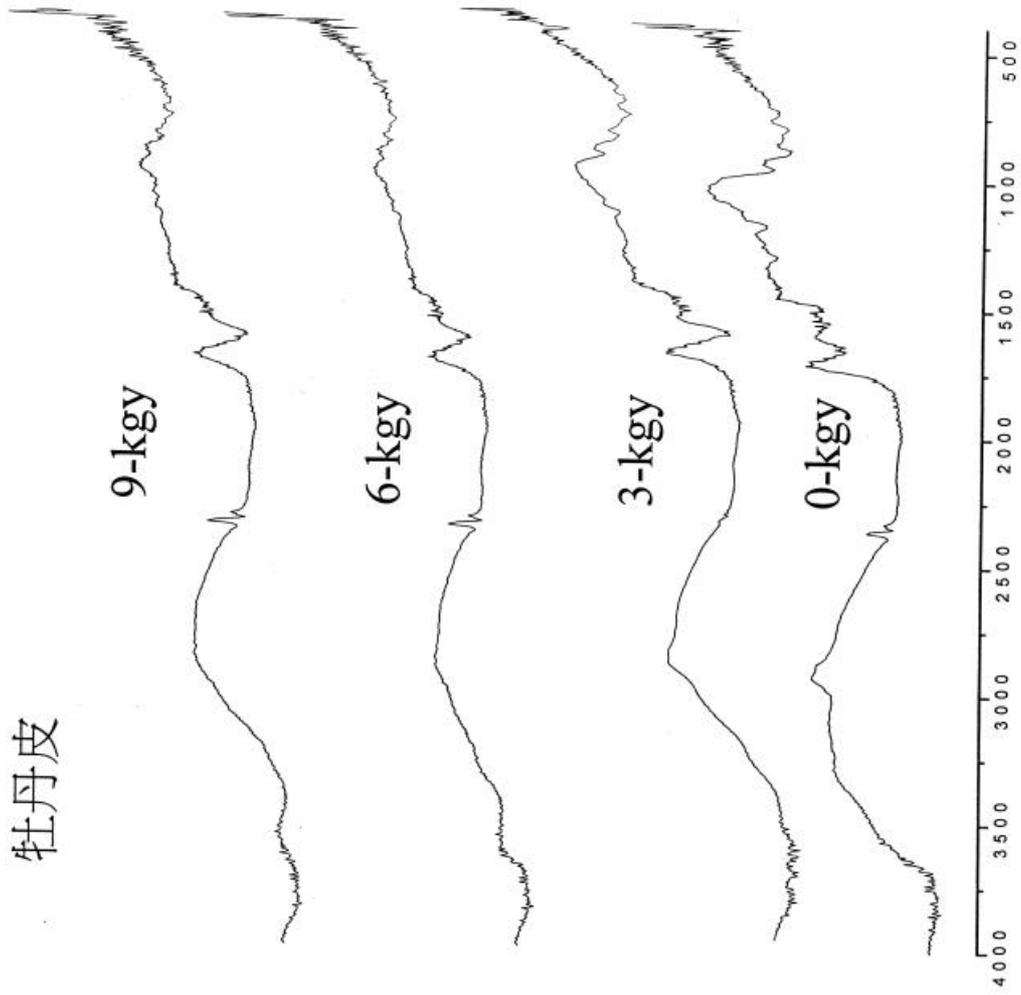


圖九：甘草 FTIR 分析之結果

樣品編號: 山梔子

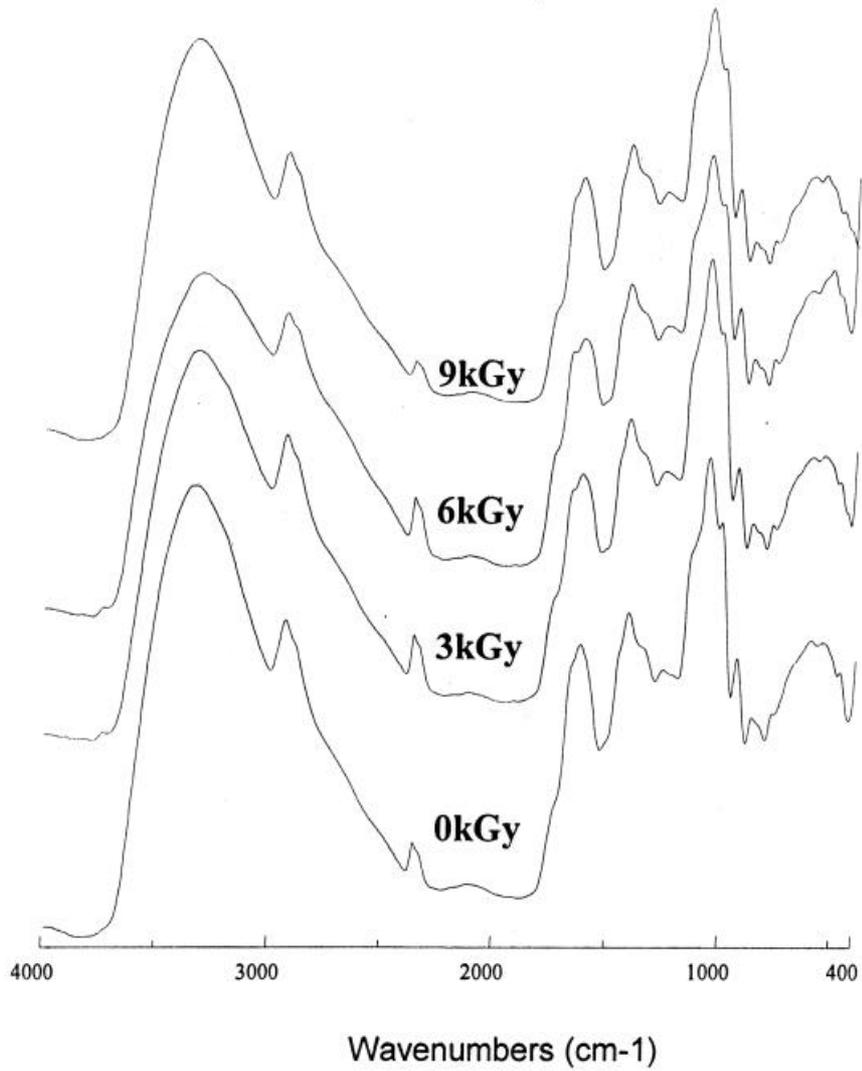


圖十：山梔子 FTIR 分析之結果



圖十一：牡丹皮 FTIR 分析之結果

樣品編號:當歸



圖十二：當歸 FTIR 分析之結果

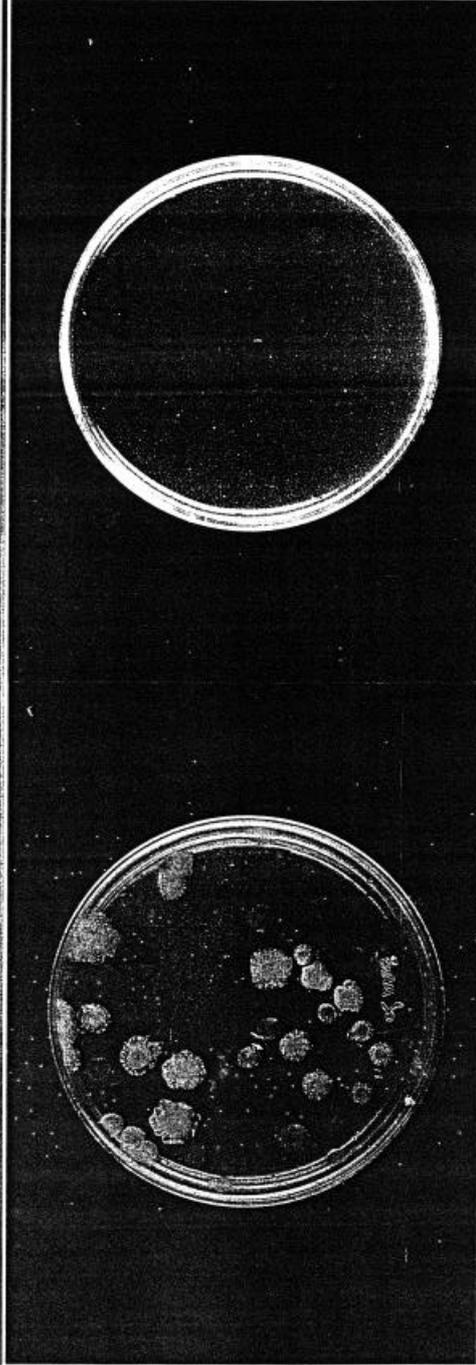
表二：不同中藥生材經不同劑量加馬射線照射後之菌量檢測結果

	Control	3kGy	6kGy	9kGy
山茱萸	-	-	-	-
熟地黃	-	-	-	-
白朮	-	-	-	-
山藥	+	-	-	-
澤瀉	-	-	-	-
茯苓	+	-	-	-
虎杖	++	+	-	-
紫草	++	++	++	++
柴胡	++	++	++	++
骨碎補	++	-	-	-
當歸	++	++	++	++
黃耆	++	++	++	-
薄荷	++	++	++	+
枳實	+	-	-	-
芍藥	++	-	-	-
牡丹皮	+	-	-	-

-:表無菌量之殘留

+:表有菌之殘留

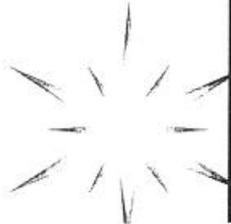
Bacteria Culture(芍藥)



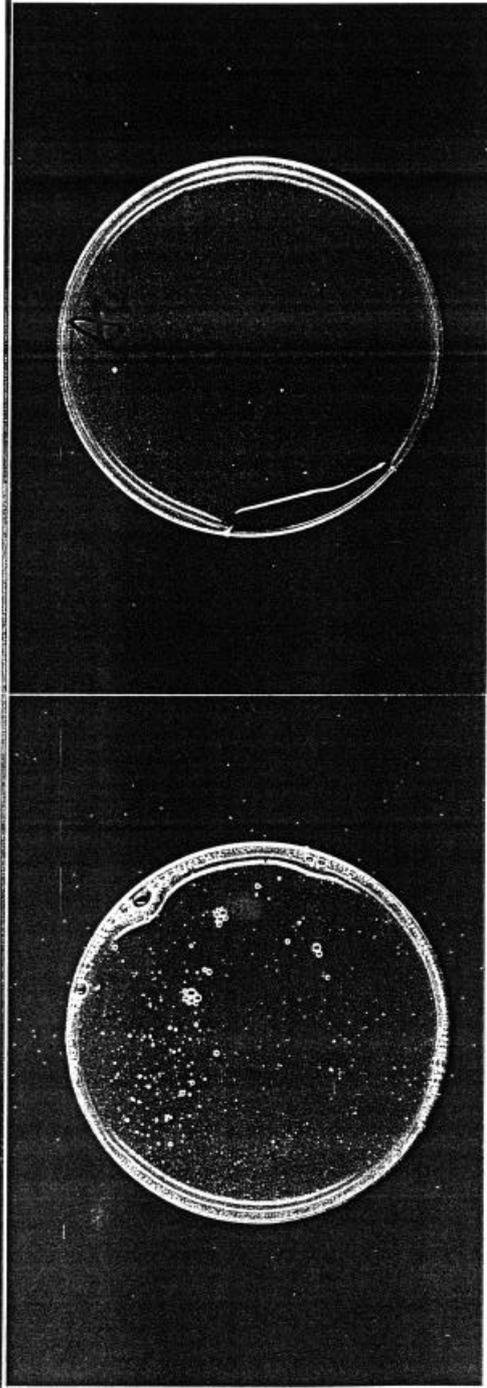
Control

3kGy

圖十三：芍藥之菌量檢測之結果



Bacteria Culture(芍藥)



6kGy

9kGy

圖十三：芍藥之菌量檢測之結果

Bacteria Culture(黄耆)



Control

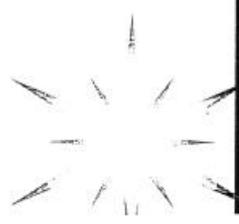
3kGy

圖十四：黃耆之菌量檢測之結果

Bacteria Culture(黄耆)



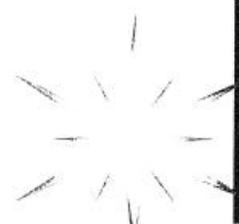
圖十四：黃耆之菌量檢測之結果



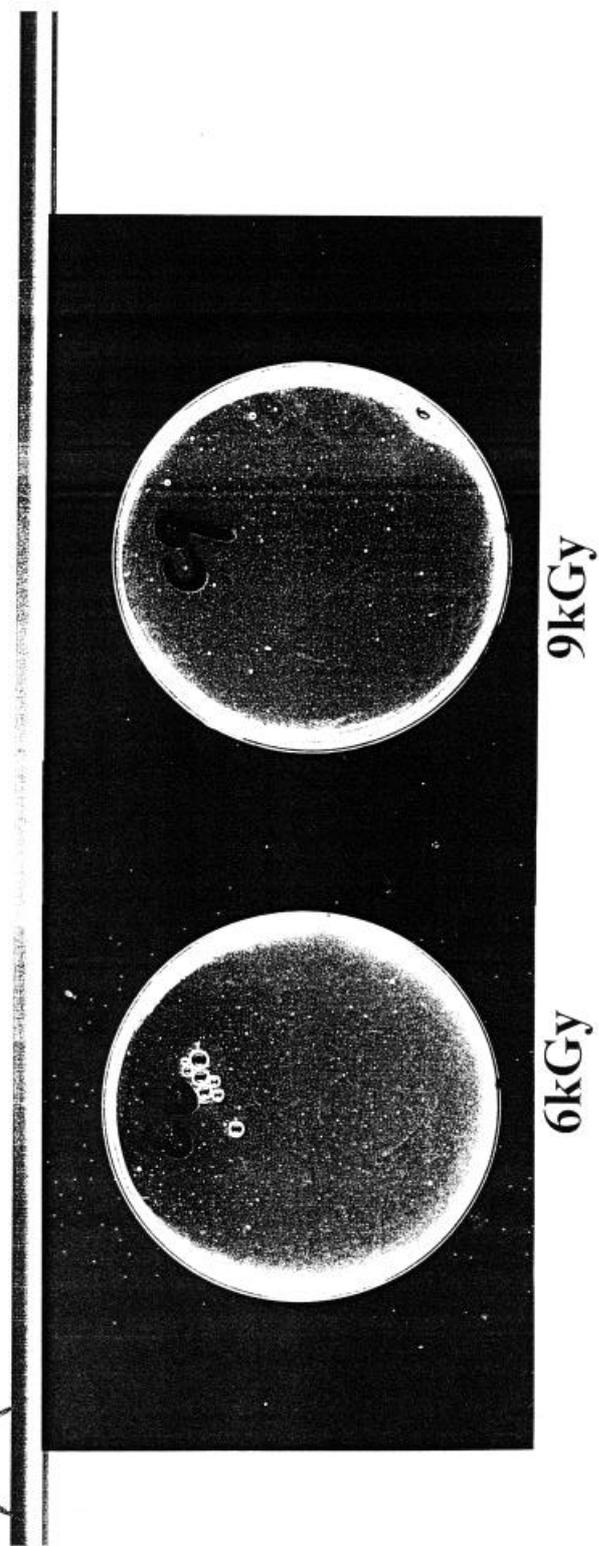
Bacteria Culture(白朮)



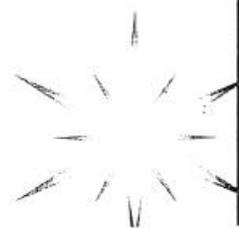
圖十五：白朮之菌量檢測之結果



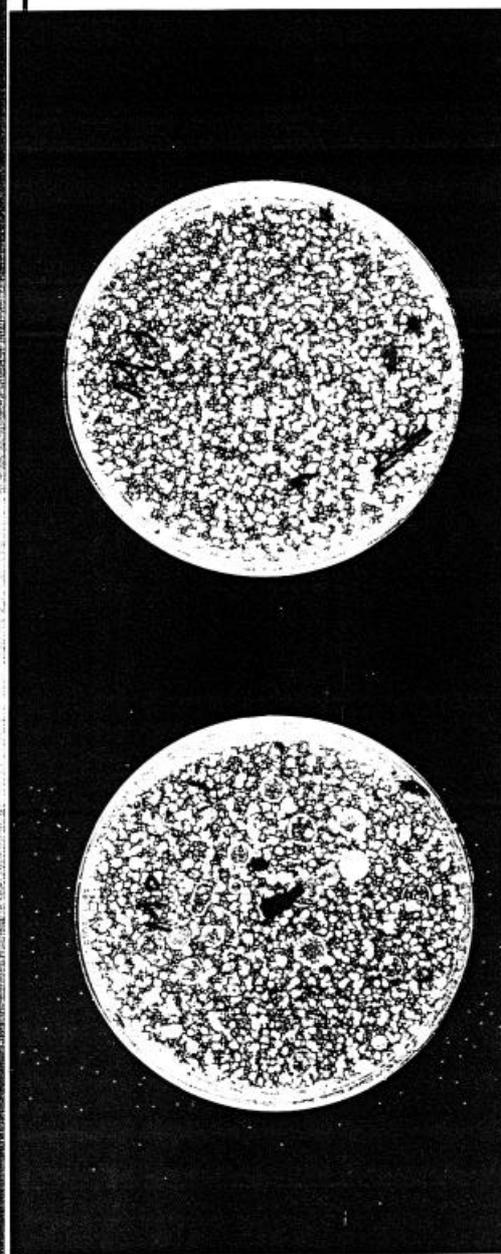
Bacteria Culture(白朮)



圖十五：白朮之菌量檢測之結果



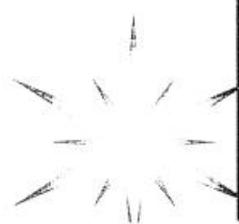
Bacteria Culture(薄荷)



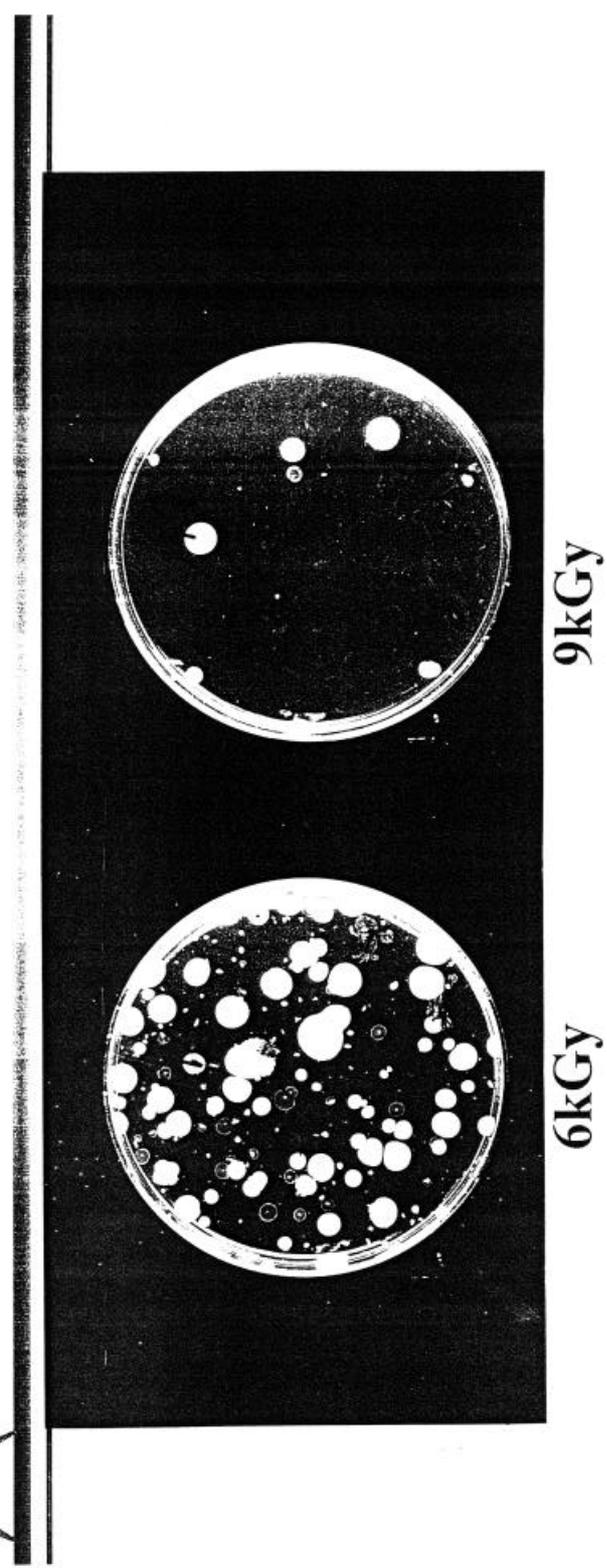
Control

3kGy

圖十六：薄荷之菌量檢測之結果



Bacteria Culture(薄荷)



圖十六：薄荷之菌量檢測之結果

參、結論與建議

- 1.由菌量檢測中發現研究對象中大部份之中藥材於實驗設計規畫之照射劑量照射滅菌後均可達到無菌的要求，除了薄荷照射達 9kGy 仍有菌量殘留之外。
- 2.並非所有研究對象中之中藥材經過照射滅菌後均會產生成份之改變的現象，由 HPLC 與 FTIR 之分析結果顯示熟地黃、甘草、生薑、澤瀉、山茱萸、柴胡、黃耆、紫草等經過加馬射線照射後並無成份之差異性，而且可達滅菌之效果，如熟地黃：6kGy、甘草:6kGy、澤瀉:3kGy、山茱萸:0kGy、柴胡:6kGy、黃耆:6kGy、紫草:6kGy。
- 3.而由 HPLC 及 FTIR 分析發現照射前後有成份或官能基之改變者，山梔子、牡丹皮、茯苓、枳實、白朮、當歸、虎杖、芍藥及骨碎補等，然而當歸及骨碎補須照射劑量達 6kGy 以上於 HPLC 或 FTIR 分析才發現成份或官能基之差異性，但當歸及骨碎補之照射滅菌劑量僅要 3kGy 即可達完全滅菌效果，因此對這兩味藥於加馬射線照射滅菌仍是適用。
- 4.對於加馬照射滅菌後之中藥材之貯存，無論於一般乾貯存或是冷凍貯存達三個月於菌量檢測試驗或化學分析，均無差異性結果產生。
- 5.由上述結論更引發對輻射中藥滅菌處理之研究構思，試想是否可以更明確研究出經過加馬射線照射之後，會產生化學改變者為何種成份？是否為有效成份之改變？或是新轉換成之成份是否會造成毒性？因此，於本研究計畫所規畫之幾種中藥生材，目前進一步純化中藥生材之萃取液，並期望以 LC-MASS 或 NMR 進行中藥生材照射滅菌前後之化學結構之變化比較實驗，同時這些問題亦均為個人於下年度計劃中想一窺究竟之主題！

伍、參考文獻

1. 朱經和等編著 中藥材儲保管知識
2. 勁華出版社 中藥材儲的保管與養護
3. 天津市中藥研究所、藥品檢定藥物研究所 “中成藥研究” vol:4 p30-31 1978
4. 南京中藥廠、江蘇新醫學院藥學系 “中草藥通訊” vol:4 p30-31 1978
5. 北京市藥材公司 “中藥科研簡報”, vol.:1, p41-47, 1978
6. 山西省中藥材公司”中藥材科技”, vol. :1, p36-37, 1980.
7. 中國科學院山西煤碳化學研究所, RSL-180 型,氮氣發生器應用資料匯編, 1978
8. 北京市藥材公司”中藥材科技”, vol. :3, p38-41, 1980.
9. 上海市商業儲運公司”商品養護科技”, vol:2, p6-7, 1980.
10. 蘇德模, “Co- γ 射線輻照滅菌中成藥的最佳輻照劑量選擇(二)”,藥物分析雜誌,vol:12, p166,1992
11. 任延軍, 李松林, “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, vol9, p31-32,1995
12. 張漢明,喬傳卓, “X 射線衍射法用於中成藥定性分析之初步研究”, 中成藥, vol15, p13-14, 1993
13. 李耀維, “黃蓮上清丸用 γ 射線輻照滅菌效果及對藥物活性的影響”, 山西中藥, vol10, p43-44, 1994
14. 陳金月, “鈷六十 γ 射線輻照滅菌對大黃主要成份的影響”, 時珍國藥研究, vol7, p154-155, 1996
15. 芮和愷, “不同培養基及鈷六十 γ 射線輻照對中國黃連葉片癒傷組織生長速度之影響”, 中成藥, vol12, p42, 1990
16. 劉成軍, “鈷六十 γ 射線輻照滅菌對蛇毒抗蝮酶粉針劑質量及藥效影響的研究”, 蛇誌, vol5, p20-23, 1993
17. 甄漢深, “鈷六十 γ 射線輻照中成藥滅菌效果的實驗研究”, 中藥通報,vol11, p33-34, 1986

18. 楊愉君, “羚翹解毒丸鈷六十 γ 射線輻照前後生物活性的比較研究”, 中成藥, vol15, p41, 1993
19. 劉希智, “川烏鈷六十 γ 射線輻照前後生物活性的比較研究”, 中醫藥信息, vol13, p55, 1996
20. 王莉, “康佳膠囊輻照滅菌效果考察”, 中成藥, vol17, p15-16, 1991
21. 楊愉君, “鈷六十 γ 射線輻照對藥理作用的影響”, 中成藥, vol17, p15-16, 1991
22. D.A. Skoog, D.M. West, “Principles of Instrumental Analysis”, p49-156, 1992.
23. 林雲蓮, 臺灣市售中藥材 HPLC 圖譜之鑑定.
24. 鹿野美弘等, “逍遙丸的三維高效液相色譜法鑑定和指標成分的定量”, *Acta Pharmaceutica Sinica* 1992; 27(11):853-857.
25. Li H., Luo S. and Zhou T., “ Studies on in vitro metabolism”, *Phytotherapy Res.* 1999, 13(3):236-238.

行政院衛生署中醫藥委員會中藥材指標成分物理化學資料表 附錄一

附件

HPLC 山茱萸		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	235 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 (E_{1cm}^{1%})。
3. 檢測出之敏感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 山梔子		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : 0.1 % H3PO4	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	240 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 甘草		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : 0.1 % H ₃ PO ₄	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	254 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 生薑		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	210 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 白朮		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : H2O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	210 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 牡丹皮		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : 0.1 % H ₃ PO ₄	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	274 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 芍藥		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : 0.1 % H ₃ PO ₄	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	230 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 虎杖		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : 2 % 醋酸	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	280 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 枳實		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	0.15 % Methanol 溶於 CH ₃ CN) : (1 mlH ₃ PO ₄ + 1 ml Trichylamine + 998 ml MilliQ)	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	254 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 柴胡		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	210 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 骨碎補		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : H2O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	280 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 茯苓		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : H2O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	254 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 黃耆		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : H2O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	203 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 當歸		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH3CN : 0.1 % H3PO4	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	320 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 $1^{mg}/_{ml}$ 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1cm}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 熟地黃		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	Methanol	偵測器波長 (Detector wavelength)	210 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 澤瀉		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	208 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 薄荷		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	203 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 山藥		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	CH ₃ CN : H ₂ O	流速 (Flow rate)	1.0 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	205 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。

附件

HPLC 紫草		附圖	
儀器廠牌型號 (Instrument)	BECKMAN system gold 126 solvent module		
偵測器 (Detector)	Detector 166		
管柱規格 (Column type)	Inertsil ODS-2 4.6 × 250 mm		
充填劑 (Column packing)	Silica and silica-Based	管柱溫度 (Column temp.)	Ambient
移動相 (Mobile phase)	(H ₂ O:Acid:CH ₃ CN): (H ₂ O:MeOH:CH ₃ CN)	流速 (Flow rate)	0.8 ml/min
注入體積 (Injection vol.)	20 μl	內標準 (Internal standard)	
檢品溶媒 (Dissolving solvent)	MilliQ	偵測器波長 (Detector wavelength)	280 nm
滯留時間 (Retention time)		流速 (Flow rate)	
純度 (Purity)			

註： HPLC 分析之試驗方法請參考下列事項：

1. 所分離得到之對照用標準品，試驗前能經常溫或矽膠及 24 小時減壓乾燥。
2. 分離管柱移動相之選擇，以檢液 1^{mg}/_{ml} 之濃度，注入量為 20μl，檢測波長以最大吸收波長為原則 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)。
3. 檢測出之感度，以前述檢品溶液之 1/100 濃度，注入 HPLC 分析，其波峰交度以整個 scale 之 10% 為原則。
4. 記錄時間以主波峰 t_R 之 2~3 倍為原則。
5. 對照用標準品純度希達 99.0% 之相對純度。