

电子自旋共振波谱法检测⁶⁰Co-γ 射线辐照中药材

梁 倩， 李咏富*， 何扬波， 龙明秀， 田竹希， 石 彬
(贵州省农业科学院现代农业发展研究所，贵州 贵阳 550006)

摘要：目的 建立电子自旋共振（ESR）波谱法检测⁶⁰Co-γ 射线辐照中药材。方法 以杜仲、金银花、黑骨藤为对象，探究在吸收剂量范围 0、1、3、5、7、9、12 kGy 下经⁶⁰Co-γ 射线辐照后 ESR 波谱特征，以及 ESR 波谱峰信号强度与吸收剂量、微波功率、贮藏时间的关系。结果 各药材经过不同剂量辐照后，ESR 波谱峰信号强度与吸收剂量均呈二次项关系增长，微波功率对信号强度有一定影响，贮藏时间对信号强度的影响较大。结论 本研究能为 ESR 在辐照中药材中的应用提供参考。

关键词：中药材；⁶⁰Co-γ 射线辐照；电子自旋共振（ESR）波谱法

中图分类号：R284.1 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2022)01-0310-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.01.060

由于中药材植物生长的特性，常含有大量的有机质，容易受到微生物的污染^[1]，需要进行灭菌处理，常用方法有化学熏蒸灭菌、干热湿热灭菌、水洗除菌及辐照灭菌^[2]，但均存在一定的局限性，对中药材中易挥发、热不稳定成分影响较大，而且会对环境造成一定的污染^[3-4]。2015 年版《中国药典》规定，辐照灭菌技术为原料药灭菌方法之一，它是指将物品置于适宜放射源辐射的 γ 射线或适宜的电子加速器发生的电子束中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法，具有穿透力强、无化学残留、处理成本低、能耗少等优点^[5-6]，适用于含有热敏性成分、含糖成分高、易霉变的中药材的灭菌^[7-8]。

目前，中药材辐照灭菌存在以下问题：企业在生产加工中药材过程中卫生要求达不到标准，导致中药材细菌数量严重超标，或者省去中药材原材料的灭菌过程,对其进行加工成制剂后利用高剂量辐照对其进行处理,导致辐照剂量超过国家标准;中药材辐照灭菌的效果不一,部分微生物例(如革兰氏阳性微生物)很难杀死,大多数药厂会因其不达标而进行重复辐照。中药材辐照灭菌技术得到推广应用的的同时，其安全性问题也成为了关注点之一^[9-10]。

常用于鉴定辐照物品和食品的检测方法有光释光法、热释光法、电子自旋共振（electron spin resonance, ESR）波谱法等^[11-12]，但目前对 ESR 波谱法的应用相对较少，它可以灵敏地检测出自由基的产生^[13-14]，其原理是样品通过辐照产生的自由基被样品中的骨头、纤维素等固体或干硬物捕获，从而被检测出来，具有灵敏、便捷、对样品无损伤等优点，已成功应用在干果^[15-16]、植物^[17-18]、肉类^[19-20]、医疗器械^[21]检测中，但鲜有涉及中药材。本实验

对辐照杜仲、金银花、黑骨藤 ESR 信号强度与吸收剂量之间关系等进行研究，为中药材辐照质量控制提供参考。

1 材料与方

1.1 仪器 微型电子自旋共振（ESR）波谱仪，德国 Bruker 公司；CX-100 型高速多功能粉碎机，上海缘沃工贸有限公司；40 目标准检验筛，浙江上虞市华丰五金仪器有限公司；⁶⁰Co-γ 辐射源，贵州省金农辐照技术有限公司。

1.2 药材 杜仲、金银花、黑骨藤购于贵州省贵阳市中药材市场，经专家鉴定为正品，自然晾干后用粉碎机将其粉碎，过 40 目筛，聚乙烯自封袋包装，备用。

1.3 方法

1.3.1 ⁶⁰Co-γ 射线辐照 称取 3 种药材各 10 g，装入 7 组聚乙烯自封包装袋中，每种 6 组，设置吸收剂量为 1、3、5、7、9、12 kGy，对其进行⁶⁰Co-γ 射线辐照，室温保存。采用重铬酸银剂量计标定，剂量计与中国计量科学院剂量计（NDAS）对比，要求误差小于±3%。

1.3.2 ESR 检测 准确称取辐照后样品适量，装入 ESR 管中，压实，置于谐振腔中，每个样品平行 3 份，重复测量 3 次。工作条件为中心磁场 3 460 Gs；扫描宽度 100 Gs；微波功率 15~40 mW；调制振幅 5.3 Gs；温度室温。

2 结果

2.1 ESR 对杜仲⁶⁰Co-γ 射线辐照后的影响

2.1.1 信号强度与微波功率的关系 图 1 显示,吸收剂量 7 kGy、微波功率 0.5~15 mW 时波谱峰信号强度为 1.2~13.47,信号强度越大,波谱峰振幅越明显,故选择 15 mW。

2.1.2 波谱信号 辐照处理后，植物中重点纤维素和多糖在⁶⁰Co-γ 射线作用下能诱导产生自由基，含有未成对电子，

收稿日期：2020-04-02

基金项目：贵州省农业科学院青年基金（黔农科院青年基金〔2018〕74）

作者简介：梁 倩（1991—），女，硕士，助理研究员，研究方向为天然产物开发与利用、中药质量控制。E-mail: qianliang018@163.com

* 通信作者：李咏富（1986—），男，博士，副研究员，研究方向为农产品质量与安全评价。E-mail: liyongfu1986@hotmail.com

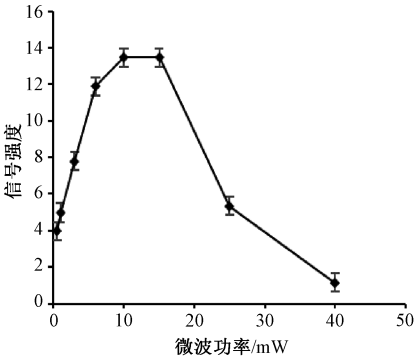


图 1 微波功率对杜仲⁶⁰Co-γ 射线辐照后信号强度的影响

在外加磁场的作用下会产生自旋共振吸收现象^[22]。不同剂量辐照后杜仲粉 ESR 波谱图 (0~12 kGy) 见图 2, 可知在 0 kGy 时在中心磁场出现 1 个特征峰, 其中波谱特征参数 $g=2.006\ 8\pm0.001\ 9$, 正负峰高之间磁场宽度 $\Delta H=49.32\text{ Gs}$; 经过 0~12 kGy 剂量辐照后, 在中心磁场区域出现的波谱峰信号强度均增大, 在 12 kGy 时更明显。

2.1.3 信号强度与吸收剂量的关系 杜仲吸收剂量与 ESR 波谱信号强度呈正相关, 二次拟合式为 $Y=-0.006\ 5X^2+1.207\ 1X+6.778\ 7$ ($r=0.984\ 3$), 在 0~12 kGy 范围内线性关系良好。

表 1 ⁶⁰Co-γ 射线辐照后杜仲在不同贮藏时间的 ESR 信号强度 ($\bar{x}\pm s$)

贮藏时间/d	信号强度						
	0 kGy	1 kGy	3 kGy	5 kGy	7 kGy	9 kGy	12 kGy
0	5.50±0.03	9.16±0.08	11.34±0.06	12.09±0.04	14.37±0.08	17.05±0.11	20.57±0.01
10	5.49±0.04	6.76±0.06	8.19±0.10	8.80±0.06	9.01±0.05	10.70±0.05	9.95±0.04
20	4.64±0.03	5.04±0.05	4.70±0.07	5.58±0.07	5.30±0.08	6.15±0.08	4.31±0.06
50	4.74±0.02	4.97±0.04	4.68±0.05	5.38±0.07	5.62±0.07	5.60±0.07	4.54±0.08
80	4.65±0.02	4.85±0.04	3.41±0.05	5.30±0.05	6.31±0.12	5.62±0.09	4.03±0.08

2.2 ESR 对金银花⁶⁰Co-γ 射线辐照后的影响

2.2.1 信号强度与微波功率的关系 图 3 显示, 吸收剂量 7 kGy、微波功率 25 mW 时波谱峰振幅较明显, 故选择 25 mW。

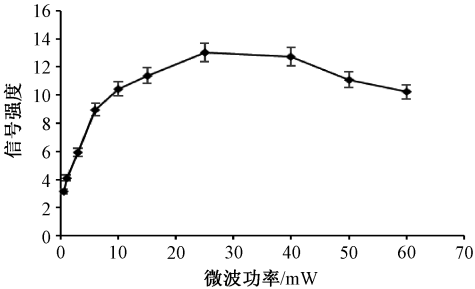


图 3 金银花⁶⁰Co-γ 射线辐照后微波功率对信号强度的影响

2.2.2 波谱信号 金银花经 1、3、5、7、9、12 kGy⁶⁰Co-γ 射线辐照后, ESR 波谱信号强度见图 4。由此可知, 辐照前在中心磁场出现 1 个特征峰, 其中波谱特征参数 $g=2.006\ 5\pm0.001\ 0$, 正负峰高之间磁场宽度 $\Delta H=41.3\text{ Gs}$; 辐照后中心磁场的波谱峰信号强度均发生改变, ESR 波谱峰信号强度均有所增大; 随着吸收剂量增加, 波谱峰信号强度、自由基总量升高, 在特征峰两边出现较不明显的对

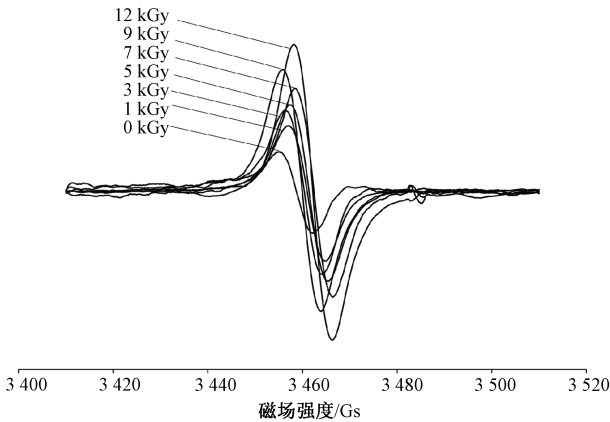


图 2 不同剂量⁶⁰Co-γ 射线辐照后杜仲 ESR 波谱图

2.1.4 信号强度与贮藏时间的关系 贮藏时间是影响 ESR 信号变化的重要因素^[23], 本实验在相同贮藏条件下, 检测 0~80 d 内各药材⁶⁰Co-γ 射线辐照后 ESR 信号强度, 结果见表 1。由此可知, 在 20 d 时吸收剂量 1 kGy 的 ESR 信号强度衰变了 44%, 3~9 kGy 衰变了 60% 左右, 12 kGy 衰变了 80%; 在 20~80 d 时, 衰变趋势变平缓; 在 80 d 时, 所有吸收剂量的 ESR 信号强度衰变平均超过 70%, 其中 12 kGy 衰变了 90%, 表明杜仲最佳检测时间在 80 d 内。

称峰, 这是由于纤维素辐照后产生的自由基特征峰^[24]。

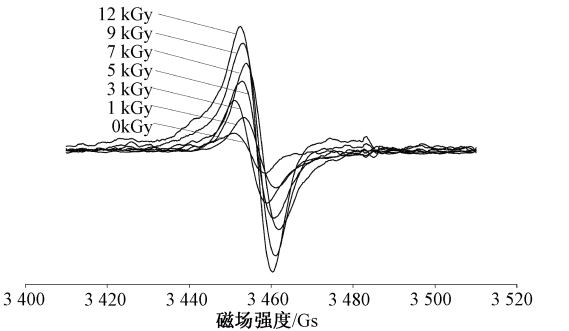


图 4 不同剂量⁶⁰Co-γ 射线辐照后的金银花 ESR 波谱图

2.2.3 信号强度与吸收剂量的关系 金银花吸收剂量与 ESR 波谱信号强度呈正相关, 二次项拟合式为 $Y=-0.032\ 4X^2+1.707\ 8X+2.788\ 9$ ($r=0.998\ 8$), 在 0~12 kGy 范围内线性关系良好。

2.2.4 信号强度与贮藏时间的关系 在 0~80 d 内⁶⁰Co-γ 射线辐照后金银花 ESR 信号强度随时间的变化规律见表 2。由此可知, 在 20 d 时, 吸收剂量 1~9 kGy 的 ESR 信号强度衰变在 50%~70% 之间, 12 kGy 衰变了 80%; 在 2~80 d

时,衰变趋势变平缓;在 80 d 时,所有吸收剂量的 ESR 信号强度衰变均超过 60%,并且与未辐照时的信号强度峰值接近,表明金银花最佳检测时间在 80 d 内。

表 2 ⁶⁰Co-γ 射线辐照后金银花在不同贮藏时间的 ESR 信号强度 ($\bar{x}\pm s$)

贮藏时间/d	信号强度						
	0 kGy	1 kGy	3 kGy	5 kGy	7 kGy	9 kGy	12 kGy
0	2.51±0.05	4.89±0.06	7.45±0.11	10.35±0.07	13.02±0.10	16.00±0.08	18.48±0.08
10	2.49±0.03	4.39±0.04	4.00±0.03	5.34±0.08	5.98±0.05	6.77±0.04	6.42±0.02
20	2.40±0.05	2.33±0.12	2.85±0.05	3.26±0.04	4.42±0.10	4.74±0.05	3.70±0.04
50	2.45±0.03	2.18±0.03	1.89±0.04	2.36±0.01	2.74±0.02	2.15±0.04	2.70±0.03
80	2.40±0.03	2.62±0.04	1.29±0.04	1.93±0.05	2.82±0.01	2.27±0.02	2.862±0.01

2.3 ESR 对黑骨藤⁶⁰Co-γ 射线辐照后的影响

2.3.1 信号强度与微波功率的关系 图 5 显示,吸收剂量 7 kGy、微波功率 0.5~70 mW 时,波谱信号强度先明显升高在 40 mW 后趋于平稳,而且微波功率过高会引起波谱峰的不稳定,故选择 40 mW。

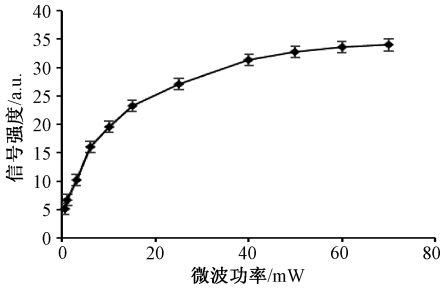


图 5 黑骨藤⁶⁰Co-γ 射线辐照后微波功率对信号强度的影响

2.3.2 波谱信号分析 黑骨藤经 1、3、5、7、9、12 kGy ⁶⁰Co-γ射线辐照后,ESR 波谱信号强度见图 6。由此可知,辐照前 ESR 波谱峰出现在磁场中心范围, $g=2.006\ 4\pm0.001\ 0$, 磁场宽度 $\Delta H=51.68\ \text{Gs}$;辐照后谱峰信号强度升高;黑骨藤以根茎入药,该部位有大量纤维,而在特征峰两旁也产生了具有纤维素特征的对称峰。

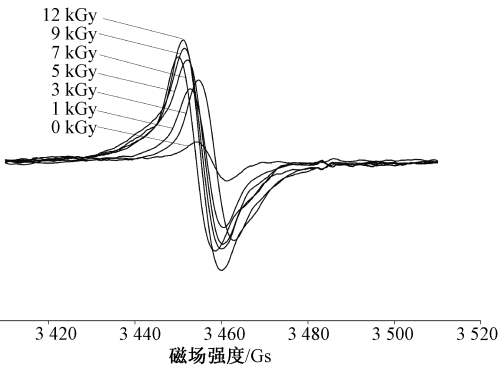


图 6 不同剂量⁶⁰Co-γ 射线辐照后的黑骨藤 ESR 波谱图

2.3.3 信号强度与吸收剂量关系 黑骨藤吸收剂量与 ESR 波谱信号强度呈正相关,二次项拟合式为 $Y=-0.201\ 2X^2+4.083\ 3X+9.426\ 9$ ($r=0.940\ 4$),在 0~12 kGy 范围内线性关系良好。

2.3.4 信号强度与贮藏时间关系 在 0~80 d 内⁶⁰Co-γ 射线辐照后黑骨藤 ESR 信号强度随时间的变化规律见表 3。由此可知,在 20 d 时,所有吸收剂量的 ESR 信号强度在吸收剂量 1、3 kGy 下衰变为 40%,其余均衰变超过 60%;在

表 3 ⁶⁰Co-γ 射线辐照后黑骨藤在不同贮藏时间的 ESR 信号强度 ($\bar{x}\pm s$)

贮藏时间/d	信号强度						
	0 kGy	1 kGy	3 kGy	5 kGy	7 kGy	9 kGy	12 kGy
0	4.97±0.05	18.33±0.06	20.50±0.07	25.59±0.05	26.36±0.06	28.50±0.02	30.63±0.04
10	4.92±0.04	17.44±0.02	20.25±0.04	16.88±0.05	14.19±0.16	17.84±0.08	20.42±0.11
20	4.84±0.01	12.58±0.07	11.68±0.12	10.038±0.02	12.65±0.01	14.32±0.05	12.82±0.08
50	4.92±0.06	8.93±0.02	11.54±0.06	10.70±0.10	12.65±0.05	13.62±0.02	12.18±0.01
80	4.94±0.03	10.02±0.01	11.91±0.08	10.12±0.13	11.66±0.02	12.33±0.02	12.77±0.03

20~80 d 时,衰变趋势变平缓;在 80 d 时,ESR 信号强度衰变值均未达到辐照前水平。再考察 ESR 信号强度与贮藏时间的关系,结果见表 4,发现最短检测时间为 97 d,表明黑骨藤最佳检测时间在 97 d 内。

3 讨论

杜仲、金银花、黑骨藤在射线的作用下能诱导自由基的产生,自由基中有未成对电子,在外加磁场作用下会产生自旋共振吸收现象,ESR 检测后信号强度反映了共振条件下样品吸收的总能量,自由基含量越大,信号强度越

表 4 黑骨藤信号强度与贮藏时间的拟合结果

吸收剂量/kGy	拟合方程	检测时间/d
1	$E=-0.112t+17.051$	107
3	$E=-0.108t+18.639$	126
5	$E=-0.147t+19.397$	97
7	$E=-0.121t+19.395$	118
9	$E=-0.149t+22.108$	147
12	$E=-0.175t+23.384$	133

注: E 为信号强度, t 为贮藏时间。
大^[25]。辐照后,3 种中药材 ESR 波谱峰振幅强度均发生改

变,并且与未辐照的波谱峰振幅强度相比均有所增大,说明辐照产生的自由基含量随着吸收剂量增加而增加,与辐照树豆莢^[26]一致。吸收剂量与波谱信号之间呈正相关,在辐照范围内相关性均良好($r\geq 0.95$),与辐照中药颗粒^[27]一致,说明用 ESR 可以检测辐照中药材。李伟明^[28]等发现,在 15 d 内葡萄皮 ESR 信号强度衰减为 80%,葡萄籽和葡萄柄衰减为 50%。贮藏时间直接影响了辐照后信号强度的衰变^[29],在 80 d 内杜仲与金银花药材的辐照信号强度衰变值与未辐照的信号强度值接近,因此 ≤ 80 d 内对辐照杜仲、金银花的检测较为准确;通过线性拟合得出,黑骨藤最佳检测时间为 ≤ 97 d。另外,微波功率对波谱信号强度有一定的影响,这与前期报道一致^[30]。

4 结论

本实验探索杜仲、金银花、黑骨藤辐照后 ESR 信号强度与微波功率、吸收剂量、贮藏时间之间的关系,证明诱导产生的自由基与波谱峰信号强度之间呈正相关,微波功率对波谱信号有一定的影响;吸收剂量与波谱信号之间呈正相关,在辐照范围内相关性良好($r\geq 0.95$);贮藏时间对波谱信号有一定的影响。因此,建议在 80 d 内对辐照杜仲、金银花,97 d 内对辐照黑骨藤进行鉴定。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版三部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[2] 王 赵. 硫磺熏蒸、辐照杀菌对中药质量影响的初步研究[D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2015.

[3] 姚道鲁, 李奉勤, 史冬霞. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌在中药方面的应用研究新进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(10): 181-182.

[4] Bai Y, Jiang W Y, Lin H, *et al.* Identification of gamma-irradiated chinese herbs by thermoluminescence analysis[J]. *J Radioanal Nucl Ch*, 2014, 301(1): 125-131.

[5] 徐光临, 刘 瑾, 刘 力, 等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌对中药黄芩和南星有效成分的影响[J]. 环球中医药, 2017, 10(8): 936-939.

[6] 孟兰贞, 罗志平, 李文革, 等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌对三七超微粉有效成分及止血作用的影响[J]. 今日药学, 2017, 27(8): 510-513.

[7] 唐瑜蓉. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照灭菌对八种花类中药材有效成分的影响[D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2016.

[8] 游强秦, 李雪松, 贺云杰, 等. 人参等中药材辐照灭菌前后质量对比研究[J]. 天津药学, 2017, 29(5): 15-21.

[9] 韦瑀龙, 蓝晓庆. 中药钴 60 辐照灭菌的应用研究进展[J]. 海峡药学, 2019, 31(8): 4-7.

[10] 白 羽. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对中药化学成分影响及辐照中药鉴定的热释光分析法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.

[11] 毕福钧, 林 彤, 江英桥. 电子加速器辐照处理中药的检测[J]. 中成药, 2018, 40(2): 490-493.

[12] 白 羽. (60) $\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对中药化学成分影响及辐照中药鉴定的热释光分析法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.

[13] Zhou L, Zhao C X, Liu W H, *et al.* ESR study of free radicals

in polysilazane irradiated by gamma rays[J]. *Radiat Phys Chem*, 2018, 151: 108-113.

[14] Çolak Ş. Investigation of radiosterilization of benzydamine hydrochloride by electron spin resonance spectroscopy[J]. *Radiat Phys Chem*, 2016, 127: 204-209.

[15] Tomaiuolo M, Mangiacotti M, Trotta G. Identification of x-ray irradiated walnuts by ESR spectroscopy[J]. *Radiat Phys Chem*, 2018, 150: 35-39.

[16] Li W M, Li A, Ha Y M, *et al.* Detection of gamma-irradiated peanuts by esr spectroscopy and gc analysis of hydrocarbons[J]. *Radiat Phys Chem*, 2011, 80(3): 501-504.

[17] Wang J X, Jiang J, Wang J, *et al.* The influence of gamma irradiation on the storage quality of bamboo shoots[J]. *Radiat Phys Chem*, 2019, 159: 124-130.

[18] Sezer M. Ö, Kaplan N, Sayin U, *et al.* ESR analysis of natural and gamma irradiated coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds[J]. *Radiat Eff Defect S*, 2017, 172(11): 815-823.

[19] Bekedam E K, Schols H A, Cänmmerer B, *et al.* Electron Spin Resonance (ESR) studies on the formation of roasting-Induced antioxidative structures in coffee brews at different degrees of roast[J]. *J Agr Food Chem*, 2008, 569(12): 4597-4606.

[20] Escudero R, Valhondo M, Ordoñez J. A, *et al.* Electron spin resonance (ESR) spectroscopy study of dry-cured ham treated with electron-beam[J]. *Food Chem*, 2012, 133(4): 1530-1537.

[21] Turker N S, Özer A Y, Çolak Ş, *et al.* ESR investigations of gamma irradiated medical devices[J]. *Appl Radiat Isotopes*, 2017, 130: 121-130.

[22] 李伟明. 基于电子自旋共振 (ESR) 波谱的辐照食品鉴定检测方法的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.

[23] 李伟明, 哈益明, 王 锋, 等. 辐照孜然的 ESR 法鉴定及原初吸收剂量的估算[J]. 中国农业科学, 2011, 44(8): 1688-1693.

[24] 汪昌保, 赵永富, 哈益明, 等. ESR 法在五种植物类辐照食品检测中应用[J]. 核农学报, 2013(5): 613-618.

[25] 周鑫瑶. 基于 ESR 技术建立农产品辐照检测方法的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.

[26] 费 晨, 叶馨今, 张海伟, 等. 电子自旋共振技术鉴别辐照茶叶[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2016, 34(3): 60-66.

[27] Hasan T, Mustafa P. ESR detection of irradiated carob pods (*ceratonia siliqua* L) and its dosimetric feature[J]. *Radiat Phys Chem*, 2017, 141: 196-199.

[28] 赵小俊, 傅俊杰, 汪志平, 等. ESR 波谱法检测辐照中成药颗粒制剂[C] //中国核科学技术进展报告 (第三卷) ——中国核学会 2013 年学术年会论文集第 8 册 (辐射研究与应用分卷、同位素分卷、核农学分卷、辐射物理分卷). 哈尔滨: 中国原子能出版社, 2013: 49-53.

[29] 李伟明, 哈益明, 赵永富, 等. ESR 法定量检测干果类辐照食品[J]. 核农学报, 2011, 25(2): 281-285.

[30] Boonsook K, Kaewwiset W, Hoonnivathana E, *et al.* Investigation of gamma radiation on hydroxyapatite synthesized from chicken eggshell by ESR spectroscopy[J]. *Adv Mater Res*, 2015, 4185: 416-420.