

## 鈷六十輻射除滅花粉中微生物之研究

周鳳英<sup>1,2</sup>

1. 新竹市 國立清華大學原科中心
  2. 聯絡作者：電子郵件 fichou@nstdc.nthu.edu.tw；傳真 886-3-5725974
- 接受日期：中華民國 88 年 3 月 1 日

### 摘 要

周鳳英, 1999. 鈷六十輻射除滅花粉中微生物之研究. 植病會刊 8:23-28.

本研究探討花粉加馬線滅菌所需之輻射劑量及花粉中主要微生物菌株之輻射抗性。所取之花粉樣品為新竹區蜂農採集、烘乾處理過之雜花粉，鈷六十加馬線照射於清華大學原科中心同位素組鈷六十熱室中進行。結果顯示花粉樣品中微生物含量為  $10^3\sim 10^4$  CFU/g，主要為好氧性細菌、真菌及酵母菌。花粉中主要分離真菌菌株經鑑定為 *Pithomyces* sp.，細菌菌株鑑定為 *Bacillus cereus*，加馬輻射對培養於 Sacc's 培養基上之 *Pithomyces* sp. 菌株分生孢子之百分之九十致死劑量 (LD<sub>90</sub>) 為 4.2 kGy，對培養於 tryptic soy broth 培養基之 *B. cereus* 的營養態及孢子態菌體之 LD<sub>90</sub> 分別為 0.9 kGy 及 6.2 kGy。上述所測花粉中之主要菌株皆非特殊高抗輻射菌株，以 10 kGy 之加馬輻射劑量照射對所採花粉樣品可達完全滅菌效果。

關鍵詞：花粉、輻射滅菌、輻射抗性

### 緒 言

雌性工蜂在收集花粉之行程中，將唾液與花蜜加入花粉中搓成花粉糰，於自然環境中長距離飛翔穿梭於花間採集花粉時，會帶入各種微生物或甚病原菌、蟲卵等。花粉品質固然會因花源不同而異，但其品質之優劣及商品之貯存期限主要仍決定於花粉由蜂巢採集至製成商品期間處理過程之乾淨、乾燥程度及包裝方式等因素。而輻射照射用於食品滅菌、滅蟲已被多數國家承認是一種食品加工及保存方法、而非食品添加物。因加馬射線照射後食品不會具有輻射性，沒有任何放射性物質殘存遺留。該技術優於傳統方法，食品可在包裝後或新鮮狀態下處理，不需提高處理溫度，使食品保持在良好品質狀況下延長保存期 (11, 13, 15, 25)。聯合國食品及農糧組織 (Food and Agricultural Organization)、國際原子能總署 (International Atomic Energy Agency) 及世界衛生組織 (World Health Organization) 專家委員會於 1980 年宣佈：在 10 kGy 以下劑量照射的食品是衛生安全的，不需再經毒性試驗，而且該類食品亦無營養及微生物方面之特殊問題。美國食品藥物管理局於 1986 年通食品照射法規中規定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，目前各國已有多項蔬菜、香辛料、藥材、咖啡豆等以加馬輻射照射以延長採收後之貯存期 (5, 13, 16, 23, 24)。食品照射應可用於花粉保存，提高花粉的衛

生條件並增加經濟效益。

國內花粉年產量高達 200 噸，台灣花粉產業已漸展開，但花粉處理上仍缺乏系統性之研究。花粉輻射滅菌具有實際之需求。花粉中主要存在菌株之輻射抗性及菌體之生理狀況是影響輻射滅菌效果之主要因素，本研究為分離鑑定花粉中之主要微生物菌株並測定其輻射抗性，評估輻射滅菌處理花粉之可行性。

### 材料與方法

#### 花粉樣品

花粉樣品係於 1997 年 8 月至 11 月間由新竹區蜂農江為宏及江煥彬處購得，蜂農將花粉由蜂箱處採收後，即於採集現場進行太陽照射及自然風乾，待傍晚收回後即以人工加熱乾燥，未能立刻乾燥者則暫置冰箱中保存。人工乾燥法係將花粉平鋪 2 至 3 公分厚於有孔鐵篩上，置於底部具熱源之乾燥機中，控制溫度、調節空氣之流速使水分易於蒸散，使用溫度約 40 至 50 C，先以 40 C 之空氣對流循環風乾處理 12 小時後，改以 50 C 空氣對流循環風乾處理 12 小時，充分利用熱源、調節空氣流量，以提高空氣中水分之飽和度後移除，乾燥後花粉之含水量約為 4 至 8 %。

## 花粉輻射照射

花粉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、劑量率測量、微生物培養基製備、微生物分離方法及殘存率測定如之前研究所述 (7-9)。對每一採集花粉樣品做三重複取樣，取每一樣品 10 g 置於樣品瓶中，將內置花粉之樣品瓶攜入鈷 -60 照射熱室，置於距射源特定距離之照射架上，使用劑量率為 5 kGy/hr，照射架以每分鐘 10 轉旋轉，使受照射之花粉樣品得到均勻的輻射劑量率，樣品經不同時間照射後取出以得到所需之照射劑量，照射後樣品立即進行微生物含量測試。

## 菌株鑑定

由花粉中分離一主要細菌菌株 PB1 及真菌菌株 PF1。PB1 菌株之鑑定包括一般形態等初步測試，及生理生化測試。一般形態等初步測試係將 PB1 菌株培養於 tryptic soy agar (TSA, Difco Co.) 上，取對數生長期之菌體進行革蘭氏染色 (Gram stain)、顯微鏡下形態觀察、催化酵素 (catalase)、氧化酵素 (oxidase) 反應測試、運動性測試、好氣及嫌氣性生長測試、及其於 MacConkey medium (Difco Co.) 上之生長測試等，初步鑑定其為革蘭氏陽性 (Gram-positive) 桿菌。之後，再委請食品工業研究所菌種中心進行 Biolog 電腦系統菌株鑑定、脂肪酸組成分析 (fatty acid analysis)、及以 API 50CHB 與 VITEK 鑑定系統進行菌體之生理生化試驗。PF1 菌株之鑑定係將其培養於 Sacc's medium 中 (即一升之培養基，含 1.0g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、0.25g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、0.25g  $\text{MgSO}_4$ 、微量  $\text{FeCl}_3$ 、4.0g  $\text{CaCO}_3$ 、20.0g agar，經高溫滅菌後，分裝於培養皿中，每皿約 10 至 15 ml，待平板凝固後在培養基表面加一片約  $3 \times 3 \text{ cm}^2$  之滅菌玉米葉，於 25 C 下連續培養數週，利用解剖顯微鏡觀察菌落並挑取產孢部位，小心製備玻片，以光學顯微鏡觀察其顯微構造，鏡檢項目包括：菌落特徵 (如菌落形態、顏色、泌出物及生長速率等)、孢子產生方式、孢子形狀、菌絲隔膜 (septum) 及假根之有無等，由上述培養形態特徵依照分類文獻之描述鑑定菌之屬名 (2, 12, 17, 20)。

## 分離菌株輻射抗性測試

PB1 菌株之輻射抗性測試：將 PB1 菌株培養於 tryptic soy broth (TSB, Difco Co.) 培養液中，25 C 下好氣性振盪培養 2 星期後，於 4 C 下以磷酸緩衝液經 18500 g 離心再懸浮之方式清洗二次，去菌液中之培養液成份，再將之懸浮於 10 ml 之磷酸緩衝液中，將懸浮菌液分裝入試管中，攜入鈷六十照射熱室進行加馬線照射。該菌於孢子態之輻射抗性測試，則係將上述懸浮菌液在輻射照射前，先於 80 C 下加熱 20 分鐘以致死非孢子態菌體 (18)，將此孢子液以適當的濃度分裝至試管中，經不同之輻射劑量照射

後，測其殘存率。PF1 真菌菌株則係測其分生孢子之輻射抗性：將 PF1 菌株培養於含玉米葉片之 Sacc's medium 中，於 25 C 下以每日照光 12 小時培養，至其白色絨毛狀之菌落中形成產孢區，待孢子轉成熟後加入 5 ml 之磷酸緩衝液，以玻棒刮下後再加入 5 ml 之磷酸緩衝液，將上述菌液 (含菌絲及孢子) 置於容積 30 ml 之三角瓶中，加入 1 ml 之 2% Tween 20 溶液及直徑 3 mm 之玻璃珠 15 粒，於振盪器中 4 C 下每分鐘 75 轉振動 10 分鐘以分散孢子，過濾去除菌絲，保留含有孢子之濾液，經加馬線照射後測其殘存率。

上述經不同輻射劑量照射後之菌液或孢子液取出後立刻進行殘存率測試；取經適當稀釋之菌液或孢子液 0.1 ml，滴入內含固體培養基之培養皿中，以玻棒塗抹均勻後將培養皿倒置，於 25 C 培養箱中培養，於第 48、72、96 小時時取出觀察其可計數狀況並計數菌落，培養皿中之菌落數以 30~300 個為恰當，估算殘存率並繪出殘存曲線。

## 加馬線照射後花粉放射活性測試

花粉樣品經 10 kGy 之鈷六十加馬線照射後取出，置於多頻道能譜分析系統進行加馬能譜分析，於蓋革計數器及游離腔偵檢器中進行 及 放射性核種活度偵測。

## 結 果

### 花粉中之微生物含量及其鈷六十加馬線照射之滅菌效果

取樣花粉之微生物含量測試結果顯示，不同取樣之花粉中微生物含量差異十分顯著，花粉中之微生物含量每克約為  $10^3$  至  $10^4$  個單位 (CFU/g)，好氣菌含量由 1500 至 12050 CFU，真菌含量由 1450 至 6000 CFU，酵母菌之含量由 120 至 2200 CFU。表一所示為加馬照射劑量與花粉中微生物存活率之相關性。花粉樣品以 2、4、6、8 及 10 kGy 輻射劑量滅菌處理，經 4 kGy 加馬線照射後花粉中之

表一、不同加馬輻射劑量照射對花粉中微生物存活之效應  
TABLE 1. Effect of different doses of gamma radiation on the number of viable microbes in pollen samples

Sample no.	Radiation doses (kGy)					
	0	2	4	6	8	10
1	3500	1220	0	0	0	0
2	17050	7200	2200	21	0	0
3	9500	2800	1350	0	0	0
4	10700	5500	700	15	0	0
5	12350	7800	1850	18	0	0
6	18850	6700	790	3	0	0
7	2950	1350	140	7	0	0

<sup>1</sup>. Number of viable microbes/gram of pollen.

表二、花粉中分離主要細菌菌株PB1之特性

Table 2. Characteristics of the isolate PB1 isolated from pollens.

Test item	Characteristics
Cell morphology	Rod
Motility	+ <sup>1</sup>
Gram stain	+
Oxidase test	-
Spore	+
Catalase test	+
MacConkey growth	+
Anaerobic grown	+
O/F test	Fermentation
Biology(4hr) 1 <sup>st</sup> test	-
Biology(24hr) 1 <sup>st</sup> test	<i>Bacillus</i> 0.393
Biology(4hr) 2 <sup>nd</sup> test	-
Biology(24hr) 2 <sup>nd</sup> test	-
API 50CHB	<i>Bacillus cereus</i> 99.9%
Vitek ID BACIL	<i>Bacillus cereus</i> 81%
Fatty acid analysis 1 <sup>st</sup> test	<i>Bacillus thuringiensis</i> 0.646
Fatty acid analysis 2 <sup>st</sup> test	-
Identification	<i>Bacillus cereus</i> (or <i>Bacillus thuringiensis</i> )

<sup>1</sup>. + : positive reaction; - : negative reaction.

微生物含量已明顯下降，經 6 kGy 加馬線照射後已有 2 個樣品得到完全滅菌，其中的另 5 個樣品仍有數個至數十個菌數殘存，樣品經 8 kGy 照射後得到完全滅菌效果。

### 花粉中之主要分離菌株

由上述花粉中分離得主要細菌 1 株 (編號為 PB1)，及真菌 1 株 (編號為 PF1)。將 PB1 培養於 TSA 培養基，鑑定菌株特性結果列如表二，PB1 為革蘭氏陽性桿菌、具催化酵素及運動性、不具氧化酵素活性，能生長於厭氧環境、葡萄糖之代謝型式皆為發酵型 (Fermentation)，為兼性好氣之革蘭氏陽性桿菌。依據 Biolog 電腦鑑定系統、菌體脂肪酸組成分析、API 50CHB 及 VITEK 四種鑑定系統之鑑定結果，PB1 為 *Bacillus cereus* Frankland and Frankland 菌株。

將 PF1 真菌菌株培養於 Sacc's medium 中，於 25 C 下每日照光 12 小時，經 2~3 週培養，其菌絲稀疏、白色，在玉米葉片上可形成分散暗黑色產孢小區，如圖一所示，分生孢子柄未特化，壁稍厚，可分叉。呈數條菌絲融合或聚生、透明至淡褐色、平滑、具短柱狀突起者為產孢細胞，相當密集，產生頂生單一分生孢子。分生孢子為長橢圓形，具 2~3 橫隔，有時可見縱隔，頂端較圓底部稍尖，脫離分生孢子柄時通常附帶一小段產孢母細胞，分生孢子表面為平滑至相當粗糙，具顆粒狀突起，為淡褐至暗褐



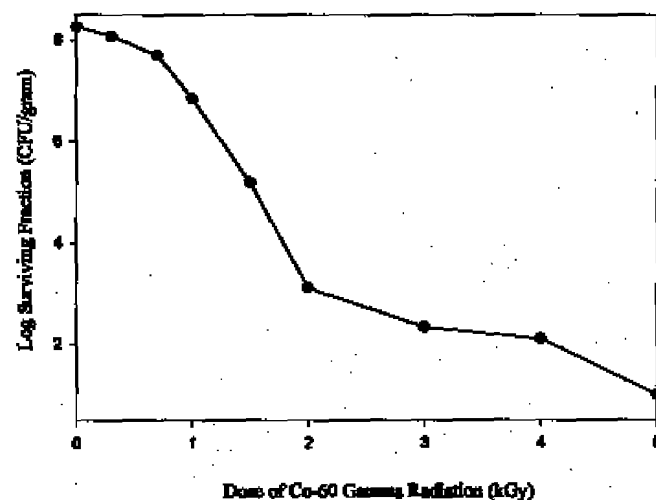
圖一、花粉中分離菌株 *Pithomyces* sp. PF1 之分生孢子 (放大倍率為 1200 倍)

Fig. 1. Conidia of *Pithomyces* sp. isolated from pollen, 1200 × .

色。初步鑑定 PF1 為 *Pithomyces* sp. 菌株。

### 主要分離菌株 *B. cereus* 及 *Pithomyces* sp. 之輻射抗性

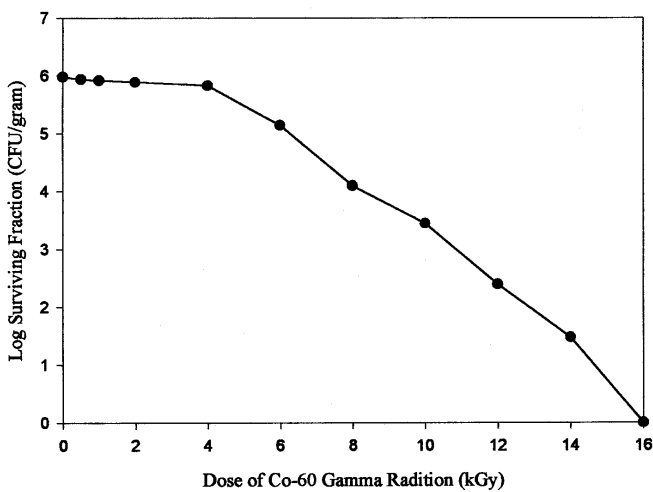
將 *B. cereus* 培養於 TSB 培養液中，25 C 下振盪培養 4 天後離心去培養液後懸浮於緩衝液中，分裝於試管之菌液經 1、2、3、4、5 kGy 之加馬線照射後，立即測其殘存菌數。其殘存曲線如圖二所示，曲線中具有二個肩部 (shoulder)，第一個肩部較不明顯，出現於照射劑量為



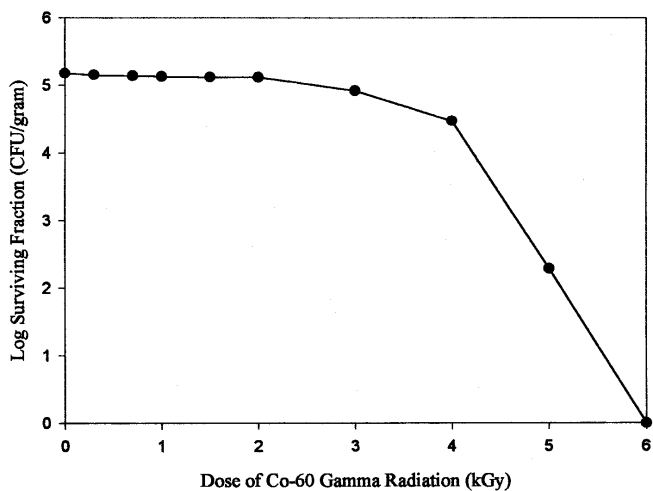
圖二、花粉中分離菌株 *Bacillus cereus* PB1 加馬輻射照射之殘存率

Fig. 2. Surviving fraction of an isolated PB1 of *Bacillus cereus* from pollen at several gamma doses irradiation

0.75 kGy 附近，劑量漸增斜率明顯下降，而照射劑量大於 2 kGy 時殘存曲線之斜率下降漸趨平緩，圖中照射劑量到達 4 kGy 時曲線出現第二個明顯的肩部。因 *B. cereus* 菌株具形成內孢子之特性，且鏡檢菌液中同時具營養態及孢子態之菌體，為確定其殘存曲線中之第二個肩部是否為表現菌株在孢子態時之輻射抗性，故取 *B. cereus* 之孢子液進行輻射抗性測試。圖三所示為其孢子態菌體之輻射抗性，照射劑量在 4 kGy 時之殘存曲線出現肩部，之後曲線明顯下降。加馬輻射對培養於 TSB 培養基之 *B. cereus* 營養態菌體的百分之九十致死劑量 (LD<sub>90</sub>) 為 0.9 kGy，對其孢子態菌體之 LD<sub>90</sub> 為 6.2 kGy。圖四所示為主要分離菌株 *Pithomyces* sp. 分生孢子輻射照射後之殘存曲線，圖中可



圖三、*Bacillus cereus* PB1 孢子經加馬輻射照射之殘存率  
Fig. 3. Surviving fraction of the endospores of an isolated PB1 of *Bacillus cereus* at several gamma doses irradiation.



圖四、*Pithomyces* sp. (PF1) 分生孢子加馬輻射照射之殘存率  
Fig. 4. Surviving fraction of the conidia of an isolated PF1 of *Pithomyces* sp. at several gamma doses irradiation.

見除了在 0.5 kGy 之照射劑量時曲線些微下降外，在照射劑量達 4 kGy 之前，為分生孢子之次致死傷害劑量，殘存曲線之斜率無明顯變化，接受 4 kGy 以上之輻射劑量後，曲線之斜率出現明顯下降。*Pithomyces* sp. 菌株分生孢子受加馬線照射之 LD<sub>90</sub> 為 4.2 kGy。

### 鈷六十加馬線照射花粉之放射活性

將接受 10 kGy 鈷六十加馬線照射後之花粉，立即置於偵檢器中，偵測分析其放射活性，並以未經加馬照射之花粉進行偵測比較。計數時間為 600 分鐘，所得數值為 0.15 μ Sv/hr 與背景質相同，顯示花粉經鈷六十加馬線照射並未生成放射性物質或核種。

### 討 論

花粉為國內產銷量十分大宗之健康食品，花粉由採收後至消費者使用期間，因採收後處理方式之不同將影響花粉中之微生物含量 (6)。本試驗所測乾燥花粉樣品中每克之生菌數約為 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup> 個，不同批次採樣之花粉中微生物含量有明顯差異，此可能為花粉源植物種類不同所致。此外，採收時之濕度、日照、風速等氣候因子、烘乾處理過程、及貯存方式亦會明顯影響微生物含量 (6, 9, 14)。蜂農於花粉採收後，即當場利用日照曬乾或晾乾花粉，日照較強、風較大的乾爽日子，上午所採之花粉至傍晚收回時已得到相當程度的乾燥，而在濕度溫度較高無風的天氣，期間花粉無法得到有效的乾燥，將利於微生物生長，由採收後至人工加溫乾燥前之時段可能提供花粉中微生物繁殖之時機。花粉烘乾之溫度對孢子態之微生物並未能達滅菌效果，本省高溫多濕之環境下，乾燥花粉再吸濕後之微生物生長，亦是影響市售花粉中微生物含量差異之因子。

筆者之前研究顯示 15 kGy 之加馬線照射對花粉之營養成份不會造成明顯影響 (9)，輻射滅菌並可避免過熱之乾燥處理對花粉風味造成不良效應。被照射食品中微生物之輻射抗性、是否存在高度抗輻射菌株等因素，是食品滅菌首要考量之問題。具紅色菌落之四聯球菌 *Dinococcus radiodurans* IR 是高度抗輻射之食品微生物，我們曾探討其不同生理條件下之輻射抗性 (7, 8)。由輻射照射花粉中殘存菌落之顏色、形態觀察，其菌株中並未發現具紅色菌落之四聯球菌；對花粉中分離之主要菌株 *B. cereus* 及 *Pithomyces* sp. 進行輻射抗性測試，結果顯示 *B. cereus* 在 2 kGy 輻射劑量處理下，非孢子態之菌株已明顯致死，4 kGy 之輻射劑量已達孢子態菌體之致死劑量，且 4 kGy 之輻射劑量亦達 *Pithomyces* sp. 菌株分生孢子之致死劑量。相較於 *D. radiodurans* 之輻射抗性，花粉中之主要菌株皆非高度抗輻射菌株。雖然花粉中之成份會因花源、採收季節等之不同而有極大差異，且生長環境、輻射照射條件之

不同均會造成微生物之輻射抗性差異 (1, 3, 17, 20), 但多次實驗結果顯示 8 至 10 kGy 之輻射劑量對市售乾燥花粉已可達完全滅菌效果。此外, 本研究中對加馬線照射花粉之放射活性分析結果, 亦證實經鈷六十加馬射線照射之花粉, 不致誘發放射活性。輻射滅菌應是花粉採收後可行之保存方式。

## 謝 辭

感謝同位素組同仁配合進行樣品之鈷六十照射。

## 引用文獻

1. Abou-Shady, M.R., El-Beih Fawkia, M., and Tawfik Zahira, S. 1992. Role of lipids in bacterial radioresistance. 5 th Conf. Nucl. Sci. Appl. 2:513-523.
2. Arx, J. A. Von. 1981. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. 3 rd. ed. J. Cramer, Gantner Verlag K.G., FL-9490 Vaduz, Germany. 424 pp.
3. 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.
4. 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.
5. Aziz, N. H., Refai, 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.
6. Bonvehi, J. S., and Jorda, R. E. 1997. Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. J. Agric. Food Chem. 45:725-732.
7. Chou, F. I., and Tan, S. T. 1990. Manganese ( ) induces cell division and increases in superoxide dismutase and catalase activities in an aging deinococcal culture. J. Bacteriol. 172: 2029-2035.
8. Chou, F. I., and Tan, S. T. 1991. Salt-mediated multicell formation in *Deinococcus radiodurans*. J. Bacteriol. 173: 3184-3190.
9. Chou, F. I., 1998. Pollen gamma-ray irradiation. Nucl. Sci. J. 35: 165- 171.
10. Collin, S., Vanhavre, T., Bodart, E., and Bouseta, A. 1995. Heat treatment of pollens: impact on their volatile flavor constituents. J. Agric. Food Chem. 43:444-448.
11. Cottee, J. Kunststadt, P., and Fraser, F. 1995. Commercialization of Food Irradiation in the USA. Radia. Phys. Chem. 46: 669-672.
12. Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute. New Surrey, England, 688pp.
13. 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.
14. Linskens, H. F., and Jorde, W. 1997. Pollen as food and medicine-a review. Econ. Bot. 51:78-86.
15. Loaharanu, P. 1994. Cost/benefit aspects of food irradiation. Food Technol. 48: 104-108.
16. Mayermiebach, E. 1993. Food irradiation-A means of controlling pathogenic microorganisms in food. Food Sci. 26: 493-497.
17. Moore-Landecker, E. 1990. Fundamentals of the Fungi. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 561 pp.
18. Postmes, T., Bogaard, A. E. van der, and Hazen, M. 1995. The sterilization of honey with cobalt 60 gamma radiation: a study of honey spiked with spores of *Clostridium botulinum* and *Bacillus subtilis*. Experientia. 51:986-989.
19. Redpath J. L., and Patterson L. K. 1978. The effect of membrane fatty acid composition on radiosensitivity of E. coli. Radiat Res. 75:443-447.
20. Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., and Filtenborg, O. 1995. Introduction to Food Borne Fungi. CBS, Institute of the Royal Netherlands Academy of ARTS and Science. Baarn, The Netherlands. 322 pp.
21. Schmidt, J. O., and Schmidt, P. J. 1984. Pollen digestability and its potential nutritional value. Glean. Bee Cult. 112:320-322.
22. Serra-Bonvehi, J. 1988. Plant origin of honeybee-collected pollen produced in Spain. An. Asoc. Palinol. Leng. Esp. 4:73-78.
23. Singh, L., Mohan, M. S., Sankarann, R., and Sharma, T. R. 1988. The use of gamma irradiation for improving qualities of spices. J. Food Sci. Technol. 25:357-360.
24. Sommer, N. F., and Fortlage, R. G. 1966. Ionizing radiation for control of post-harvest diseases of fruits and vegetables. Adv. Food Res. 51: 147-193.
25. Takehisa, M., and Ito, H. 1986. Experiences of food irradiation in Japan. Food Rev. Int. 2:19.

## ABSTRACT

Chou, F. I. 1999. The sterilization of pollen with cobalt-60 gamma radiation - a study of the radiation resistance of microbial strains isolated from pollen. *Plant Pathol. Bull.* 8:23-28. (<sup>1</sup>. Nuclear Science and Technology Development Center, National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan, 300, R. O. C. ; <sup>2</sup>. Corresponding author, E-mail: fichou@nstdc.nthu.edu.tw , Fax No: 886-3-5725974)

This study examined the lowest dose of irradiation needed for sterilization of honeybee-collected pollen and the radiation resistance of the microbial strains isolated from pollen. Pollen samples were harvested and dried by artificial heating by beekeepers in Hsinchu. Samples were irradiated in a cobalt-60 hot cell of the Isotope Division, Nuclear Science Technology Development Center, National Tsing Hua University. Experimental results indicated that microbial populations in the commercial pollen ranged from  $10^3$  to  $10^4$  CFU/g. Among the microbiological parameters, a high aerobic counts, fungi, and yeasts were found. The predominant strains isolated from pollen were *Pithomyces* sp. and *Bacillus cereus*. The 90% lethal dose (LD<sub>90</sub>) of gamma radiation in conidia of *Pithomyces* sp. was 4.2kGy. The LD<sub>90</sub> of the vegetative cells and endospores of *B. cereus* were 0.9 kGy and 6.2 kGy respectively. The microbial strains isolated from pollen were not the high radiation resistant ones. 10kGy of gamma irradiation was necessary for sterilizing the microbes in the commercial production pollen.

Key words: pollen, radiation sterilization, radiation resistance