

# 佛手柑

(CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS)

## 佛手柑 MI

一、藥材採購及鑑定.....	2
二、藥材性狀描述 (圖 1).....	2
三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2).....	3
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3).....	3

## 佛手柑(藥材)HPLC

一、材料.....	8
二、儀器及層析管柱.....	8
三、實驗藥品及試劑來源.....	8
四、方法.....	8
五、結果.....	12

## 佛手柑(飲片)HPLC

一、材料.....	22
二、儀器及層析管柱.....	22
三、實驗藥品及試劑來源.....	22
四、方法.....	22
五、結果.....	25

## 佛手柑 TLC

一、方法.....	29
二、萃法選擇及濃度測試.....	30
三、溶媒系統選擇.....	31
四、觀察方式選擇.....	34
五、十批佛手柑藥材樣品檢測.....	35
六、十批佛手柑飲片樣品檢測.....	37

# 佛手柑

## (CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS)

### 一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為佛手柑的乾燥果實。

### 二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：佛手柑

生藥名：CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS

英文名：Finger Citron

基原：本品為芸香科 Rutaceae 植物佛手柑 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle 之乾燥果實。

採收加工：一般種植 2~3 年後結果，佛手果實成熟期不一，一般多在秋季採收，果實由綠轉黃時採摘，縱切成薄片後曬乾或低溫乾燥。

藥材性狀：本品柑果卵形或長圓形，頂端分裂如拳狀或張開似指狀，表面黃綠色至橙黃色，粗糙，有許多下凹的點狀油室。

飲片性狀：本品藥材已縱切為薄片，略呈橢圓形，大小不一，常皺縮或捲曲，長 5~12 cm，寬 2~6 cm，厚 1~2 mm；頂端較寬大，常有指狀分裂，裂瓣披針形，基部略窄，有的可見果梗痕。外皮黃綠色至橙黃色，斷面邊緣有許多下凹的點狀油室，果肉灰白色或淺黃白色，散有黃色點狀或縱橫交錯的維管束。質軟。氣芳香，味酸苦。

生長分佈：常綠小喬木，高 2~3 公尺。為熱帶、亞熱帶植物，喜溫暖濕潤、陽光充足氣候，不耐寒、不耐旱，以雨量充足、冬季無冰凍地區為宜。花期 4~12 月，盛花期 3 次，果期 1~12 月，分期成熟。主產於中國廣西、廣東、四川等地。

### 三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 表皮細胞 1 層，外有角質層，細胞呈扁長方形、扁方形。
2. 近表皮的 2~3 層細胞，壁略厚。
3. 外側有大型油室 1~2 層，呈橢圓形，不規則散生且大小不一，直徑 260~800  $\mu\text{m}$ ，由分泌細胞組成，分泌細胞呈扁長方形或不規則形，內含有油滴。
4. 中果皮寬廣，薄壁細胞呈類圓形，壁不均勻增厚，排列疏鬆，中有維管束散佈，薄壁細胞內可見橙皮苷結晶。
5. 草酸鈣方晶可見，多存在於近表皮之薄壁細胞中，直徑 10~18  $\mu\text{m}$ 。

### 四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淡棕黃色。
2. 表皮細胞表面觀呈不規則多角形，偶可見類圓形氣孔。
3. 中果皮薄壁細胞眾多，細胞呈不規則形或類圓形，壁不均勻增厚。
4. 草酸鈣方晶甚多，呈多面形、菱形或雙錐形，直徑 10~18  $\mu\text{m}$ ，偏光顯微鏡下呈亮白色至多彩色。
5. 可見橙皮苷結晶，偏光顯微鏡下呈亮黃白色至多彩色。
6. 導管多為螺紋導管，亦可見有緣紋孔導管及網紋導管，直徑 11~38  $\mu\text{m}$ 。

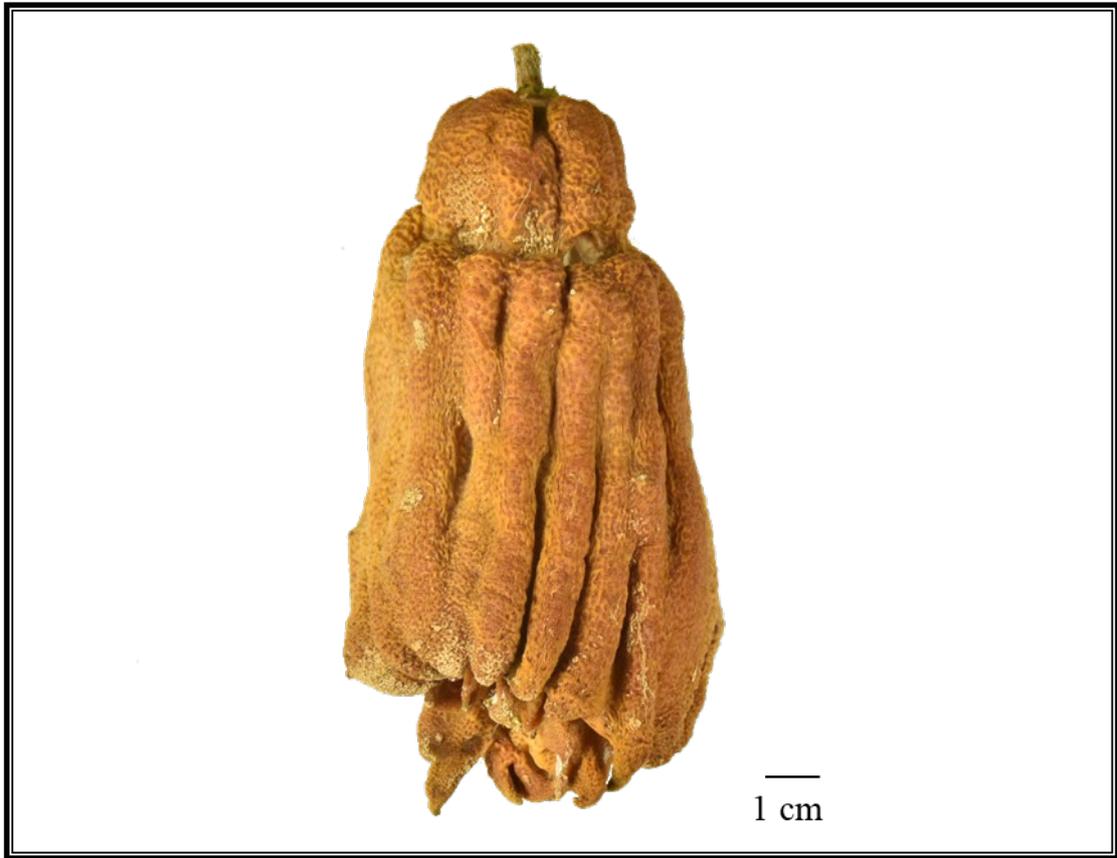


圖 1A 佛手柑藥材圖



圖 1B 佛手柑飲片藥材圖

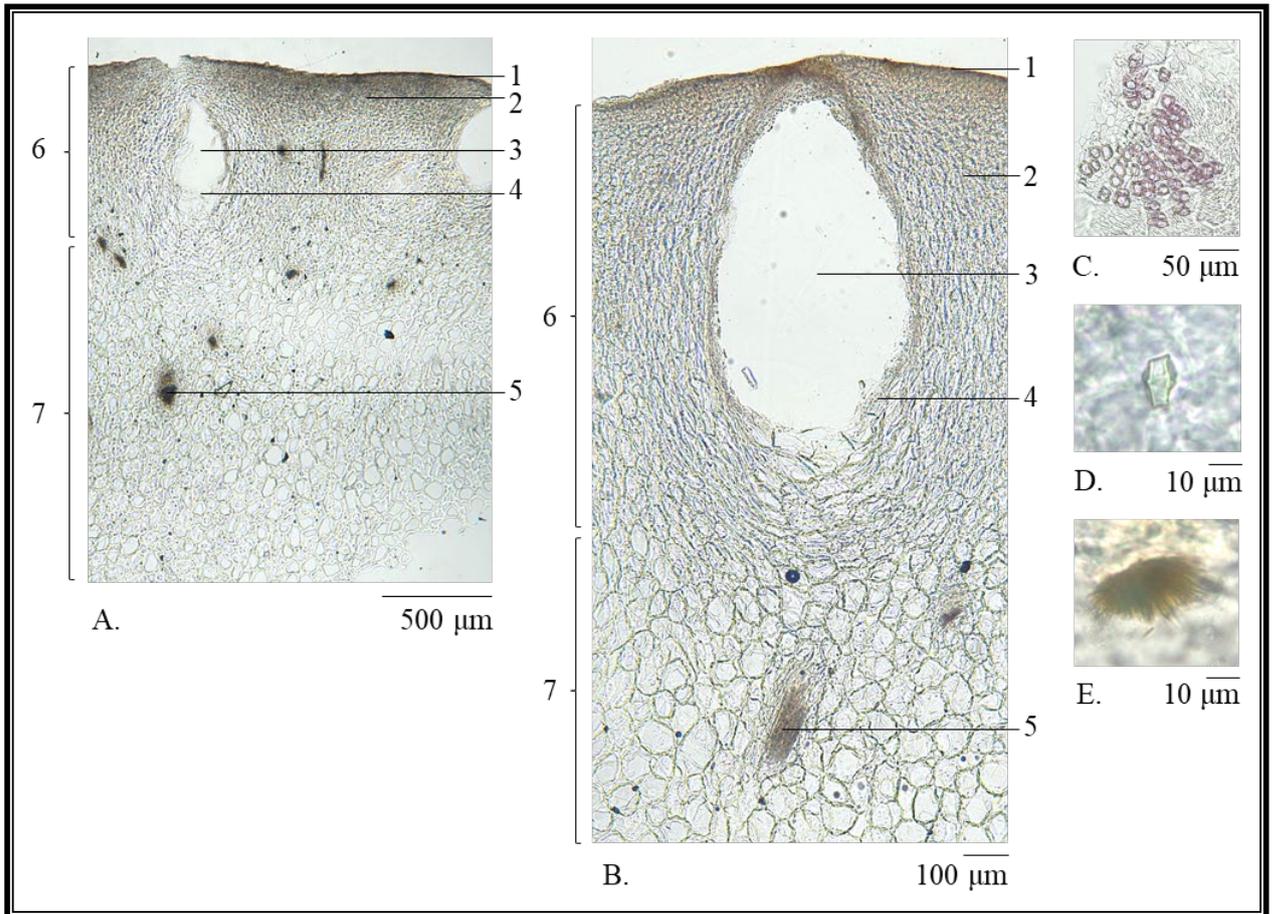


圖 2 佛手柑橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.維管束 D.草酸鈣方晶 E.橙皮苷結晶

1.表皮 2.薄壁細胞 3.油室 4.分泌細胞 5.維管束 6.外果皮 7.中果皮

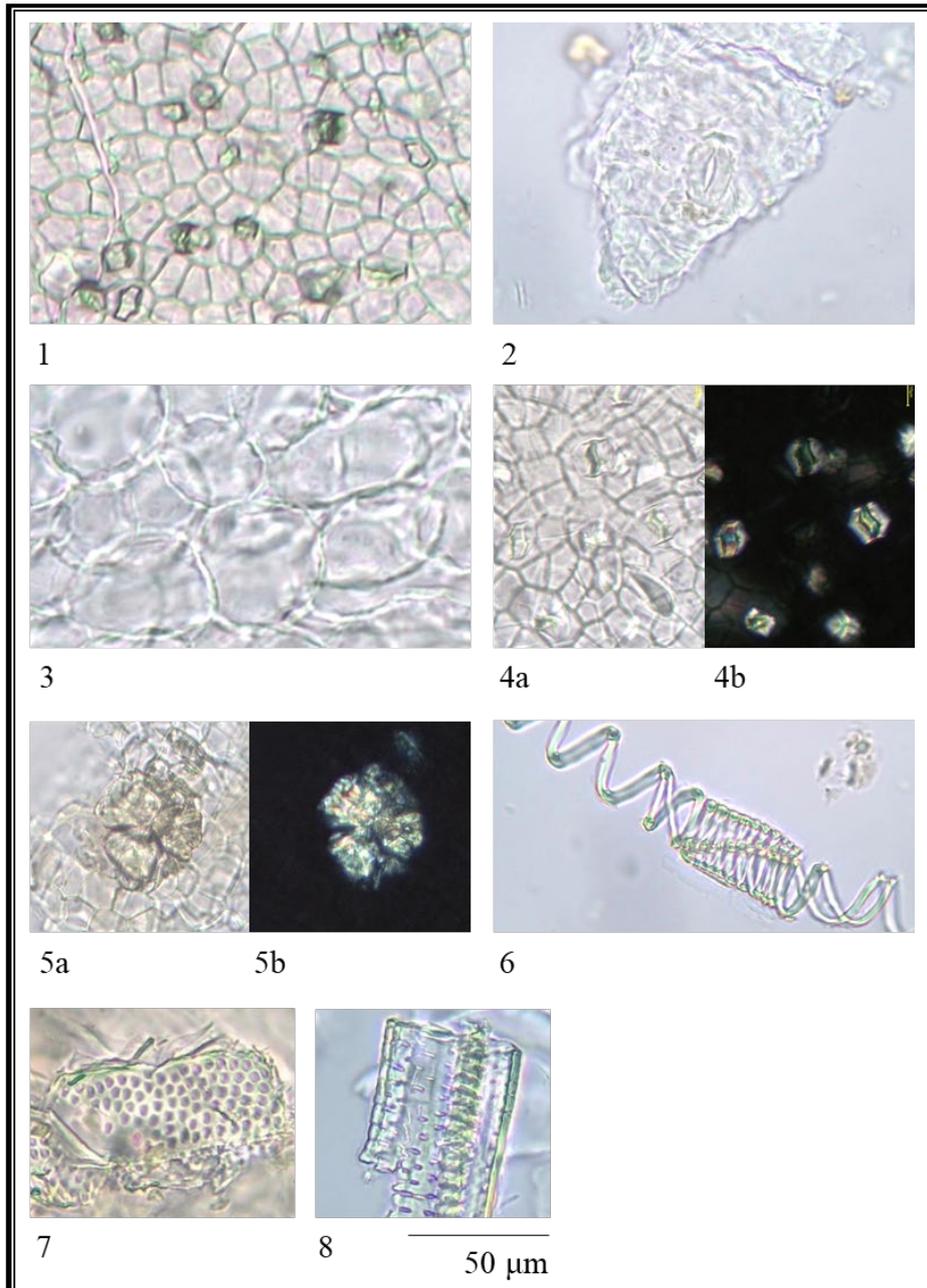


圖 3 佛手柑粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 表皮細胞及草酸鈣方晶 2. 氣孔 3. 中果皮細胞 4. 草酸鈣方晶

5. 橙皮苷結晶 6. 螺紋導管 7. 有緣紋孔導管 8. 網紋導管

#### 參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組編纂(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。142~143 頁。
2. 戴新民(1987)。現代本草中國藥材學下冊。啟業書局。876~879 頁。
3. 戴新民(1978)。中藥栽培法。啟業書局。278 頁。
4. 肖培根等編輯(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。304~307 頁。
5. 陳士林、林余霖主編(2013)。中藥飲片標準圖鑑。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。312 頁。
6. 國家藥典委員會編輯(2020)。中華人民共和國藥典 2020 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。185~186 頁。
7. 徐乃良、岑麗華編著(1990)。名貴中草藥栽培技術。廣西民族出版社。200~206 頁。
8. 范崔生主編(1995)。中藥採收鑑別應用全書。江西科學技術出版社。406 頁。

# 佛手柑( CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS )

## 一、材料

購自於臺灣各地中藥店佛手柑藥材共 10 批。

## 二、儀器及層析管柱

### (一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

### (二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

## 三、實驗藥品及試劑來源

### (一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；乙酸購自於 Merck。

### (二) 標準品

橙皮苷(Hesperidin)來自於中藥司，純度 98%以上。

## 四、方法

### (一) 最佳萃取條件評估

取本品粉末 2 份，每份準確稱取 0.5 g，分別置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘、1 小時；另取本品粉末 1 份置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 25 mL，加熱迴流 1 小時，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加入溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm)，即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之標準品橙皮苷最大波峰面積為最佳佛手柑萃取溶媒。

## (二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)4 份，每份準確稱取 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 25 mL，加熱迴流 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22  $\mu$ m)，即得。每針 10  $\mu$ L 注入 HPLC，並選出最佳萃取時間。

## (三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品橙皮苷 1.5 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含橙皮苷 150  $\mu$ g 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 15  $\mu$ g/mL 製成對照標準品溶液。

## (四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 25 mL，加熱迴流 1 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22  $\mu$ m)，即得。

## (五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10  $\mu$ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中橙皮苷的含量，即得。

## (六) 檢量線

準確吸取橙皮苷標準品儲備溶液適量(150  $\mu$ g/mL)，以甲醇稀釋成含橙皮苷分別為 100、50、30、15、5.0、3.0  $\mu$ g/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10  $\mu$ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式  $y = ax + b$  與相關係數  $R^2$ 。

## (七) 精密度試驗

以橙皮苷為 15  $\mu$ g/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以橙皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

## (八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售佛手柑藥材粉末，依佛手柑藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份佛手柑檢品溶液，進樣測定，以橙皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。

2. 穩定性：取同一批市售佛手柑藥材粉末，依佛手柑藥材檢品溶液製備方法製備佛手柑檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以橙皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 3:1$  時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 10:1$  時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知橙皮苷含量的佛手柑藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 1.0 mL 的橙皮苷溶液(0.2 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 284 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	35	65
30	35	65

(十二) 臺灣市售佛手柑藥材含量測定

取 10 批市售佛手柑藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品橙皮苷的百分含量。

(十三) 佛手柑檢品之 UPLC 層析條件

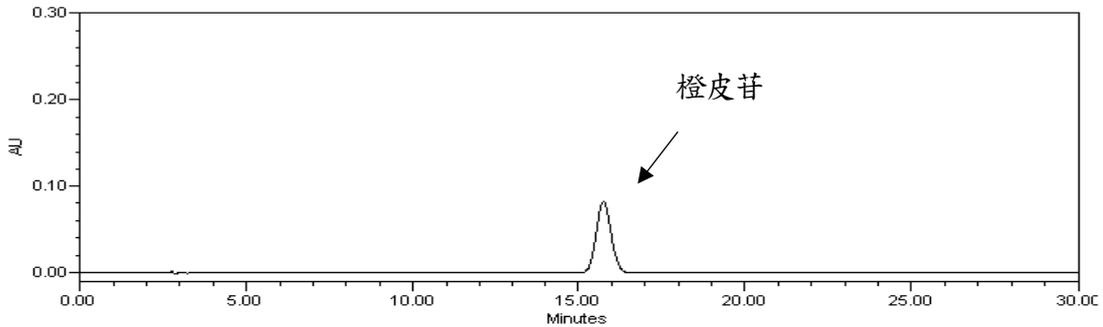
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 284 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	35	65
10	35	65

## 五、結果

### (一) 標準品橙皮苷之 HPLC 層析

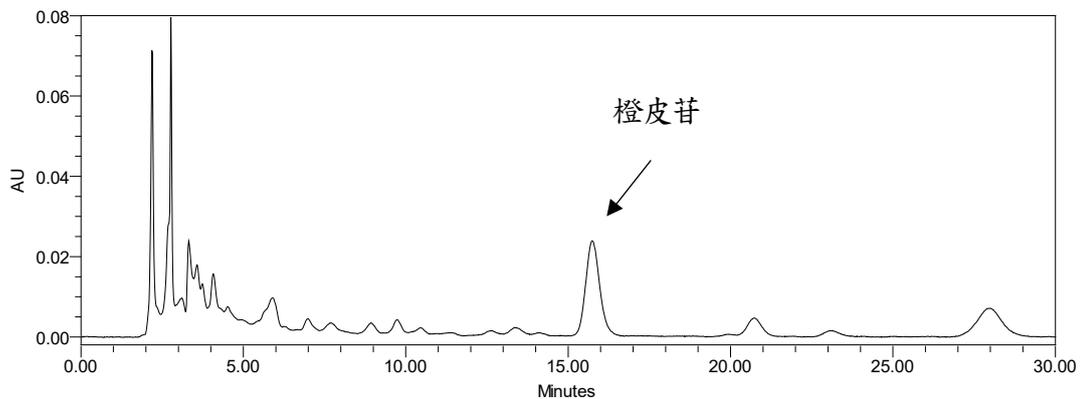
於滯留時間 15.76 分鐘處顯示橙皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、橙皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

### (二) 市售佛手柑藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.74 分鐘處顯示佛手柑藥材檢品中橙皮苷波峰(圖二)。橙皮苷分離率( $R$ )為 2.54，拖尾因子( $T$ )為 1.14，均在系統適用性要求內。



圖二、市售佛手柑藥材檢品之 HPLC 層析圖

### (三) 最佳萃取條件評估

加熱迴流處理 1 小時條件下，每克藥材重量所得橙皮苷的波峰面積比超音波振盪 1 小時為大，顯示加熱迴流處理 1 小時為最佳萃取條件。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	橙皮苷波峰面積	最佳萃取
超音波振盪 30 分鐘	162051	
超音波振盪 1 小時	179980	
加熱迴流 1 小時	351959	√

#### (四) 最佳萃取時間評估

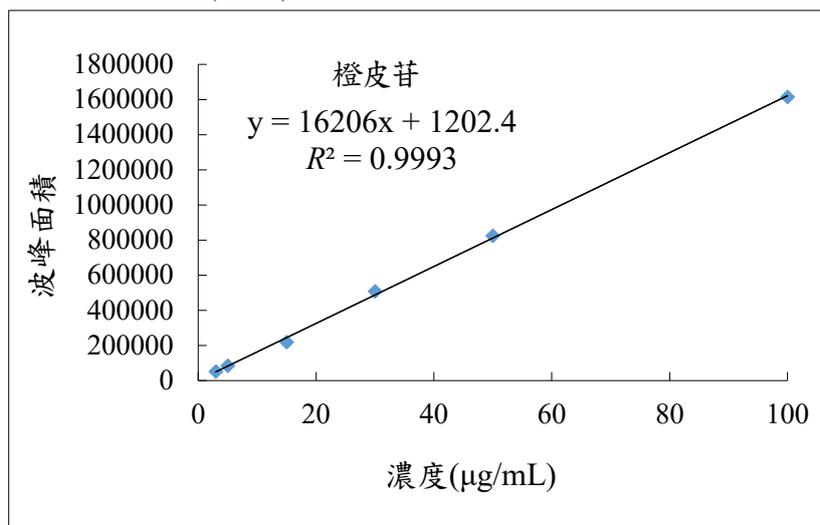
結果顯示加熱迴流萃取 1 小時所得橙皮苷的波峰面積最大，基本上已將橙皮苷萃取完全，因此選擇加熱迴流萃取 1 小時是最佳萃取時間。

表二、佛手柑藥材檢品萃取時間評估

加熱迴流時間	橙皮苷波峰面積	最佳萃取
1 小時	384339	√
2 小時	368136	
3 小時	339331	
4 小時	325310	

#### (五) 標準品橙皮苷檢量線

經不同濃度橙皮苷(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為  $y = 16206x + 1202.4$ ， $R^2 = 0.9993$ ，顯示濃度在 3.0–100  $\mu\text{g/mL}$  有良好的線性關係(圖三)。



圖三、橙皮苷之檢量線圖

表三、橙皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度( $\mu\text{g/mL}$ )	線性回歸方程式	$R^2$
橙皮苷	3.0–100	$y = 16206x + 1202.4$	0.9993

#### (六) 精密度試驗

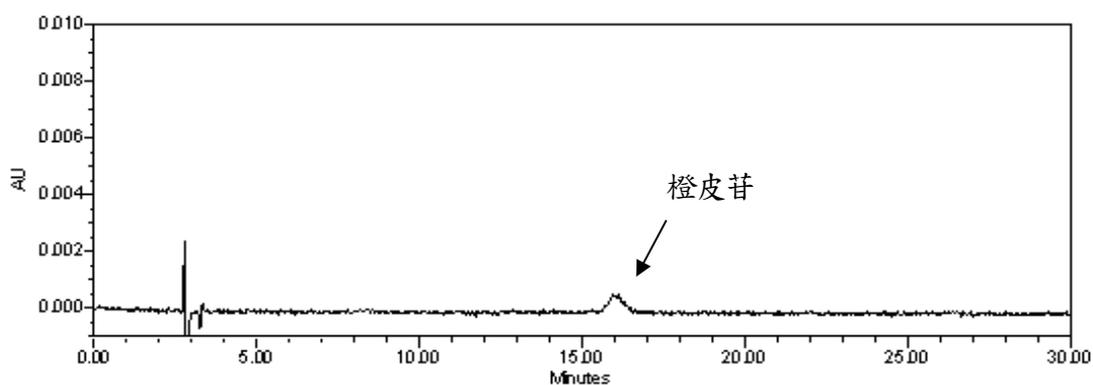
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，橙皮苷精密度之相對標準差為 0.22%，在系統適用性要求內。

### (七) 重複性與穩定性試驗

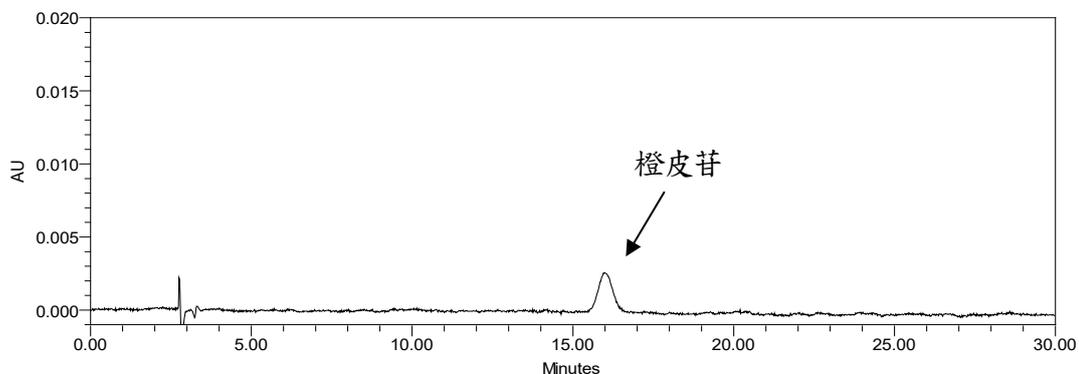
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，橙皮苷重複性之相對標準差為 0.88%，在系統適用性要求內。橙皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 0.52%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

### (八) 偵測極限與定量極限試驗

橙皮苷偵測極限為 1.0  $\mu\text{g/mL}$  (圖四)，定量極限為 3.0  $\mu\text{g/mL}$  (圖五)。



圖四、橙皮苷之偵測極限層析圖



圖五、橙皮苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	橙皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	15 $\mu\text{g/mL}$	0.22
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.6)	0.88
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.6)	0.52
偵測極限 (n=3)	1.0 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=3)	3.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

橙皮苷平均添加回收率為 92.0%，相對標準偏差為 2.09%。

表五、橙皮苷添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.50	0.1387	0.20	0.3205	90.91	91.97	2.09
2	0.50	0.1387	0.20	0.3193	90.29		
3	0.50	0.1387	0.20	0.3264	93.85		
4	0.50	0.1387	0.20	0.3197	90.52		
5	0.50	0.1387	0.20	0.3272	94.25		

(十) 臺灣市售佛手柑藥材含量測定

10 批佛手柑藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，橙皮苷的含量為 0.035–0.246%，建議佛手柑藥材指標成分橙皮苷的含量不得少於 0.03%。理論板數按橙皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 6523)。

表六、臺灣市售佛手柑檢品之橙皮苷的含量

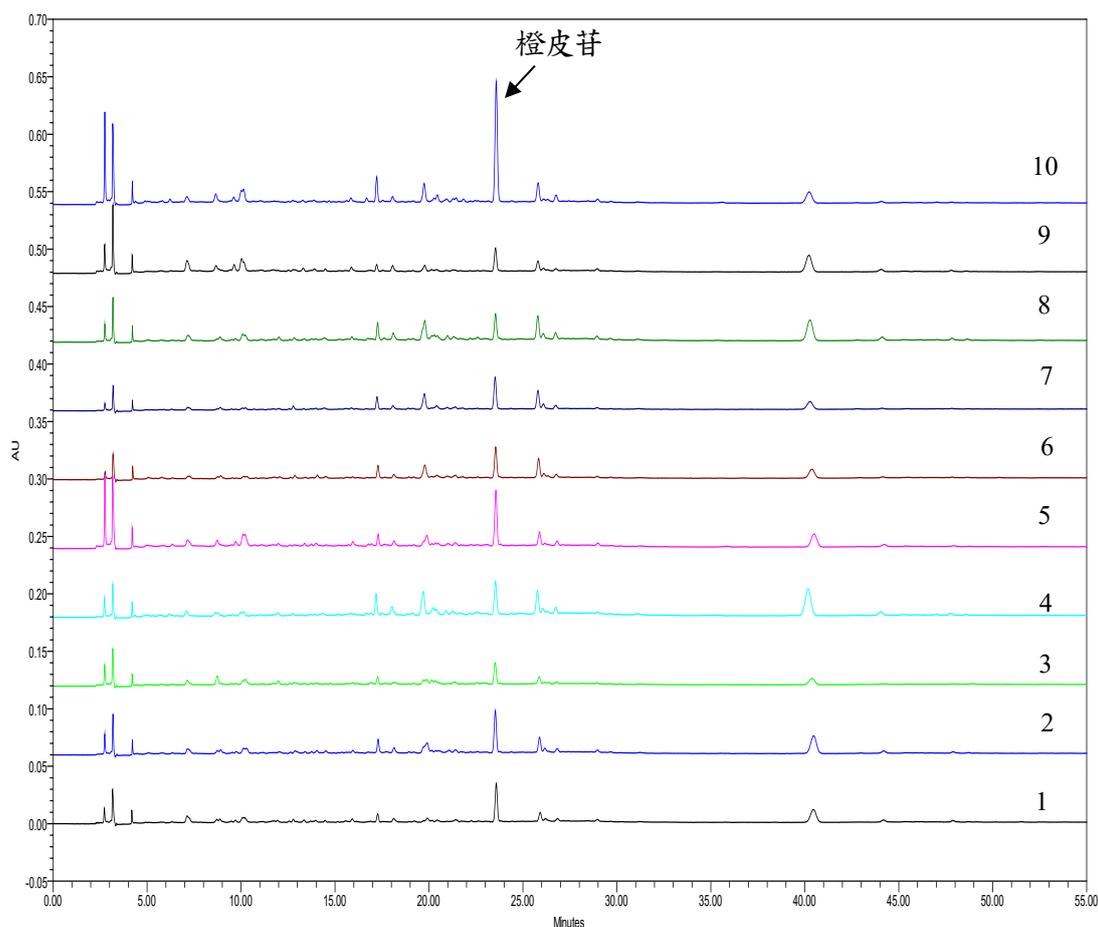
藥材編號(No.)	橙皮苷含量(%)
1 (ND-1)	0.069
2 (ND-2)	0.073
3 (NDB)	0.036
4 (NJ)	0.063
5 (CAA)	0.112
6 (CF)	0.044
7 (CH)	0.046
8 (SA)	0.035
9 (SU-1)	0.043
10 (SU-3)	0.246
平均值±S.D.	0.077±0.064

(十一) 佛手柑藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售佛手柑藥材檢品溶液各 10  $\mu$ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II-C18 Column (250  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)
2. 檢測波長：UV 284 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35  $^{\circ}$ C
5. 注入量：10  $\mu$ L
6. 移動相：

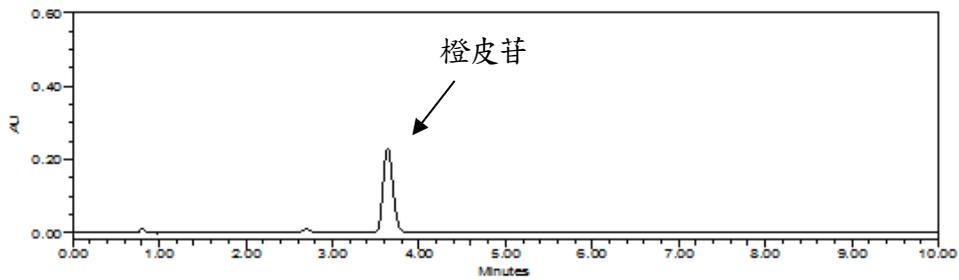
時間(min)	乙腈(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	2	98
20	25	75
25	32	68
34	32	68
38	35	65
44	50	50
55	55	45



圖六.、10 批佛手柑藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品橙皮苷之 UPLC 層析

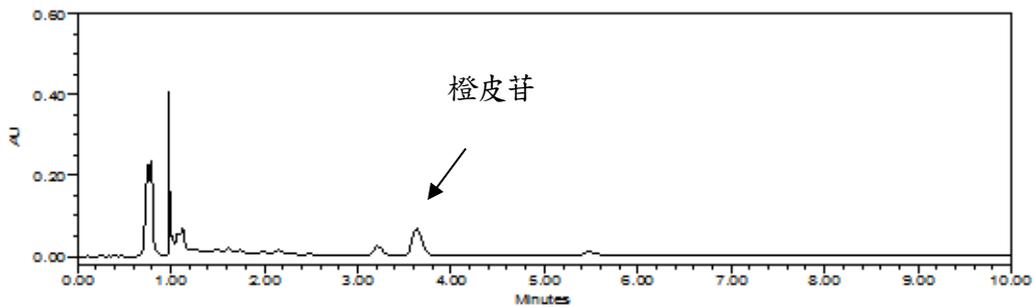
於滯留時間 3.63 分鐘處顯示橙皮苷標準品的波峰(圖七)。



圖七、橙皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售佛手柑藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.63 分鐘處顯示佛手柑藥材檢品中橙皮苷的波峰(圖八)。

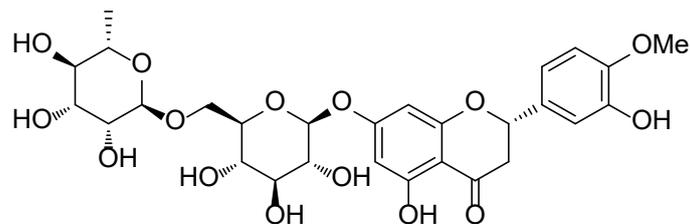


圖八、市售佛手柑藥材檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 橙皮苷的分子式、分子量與熔點

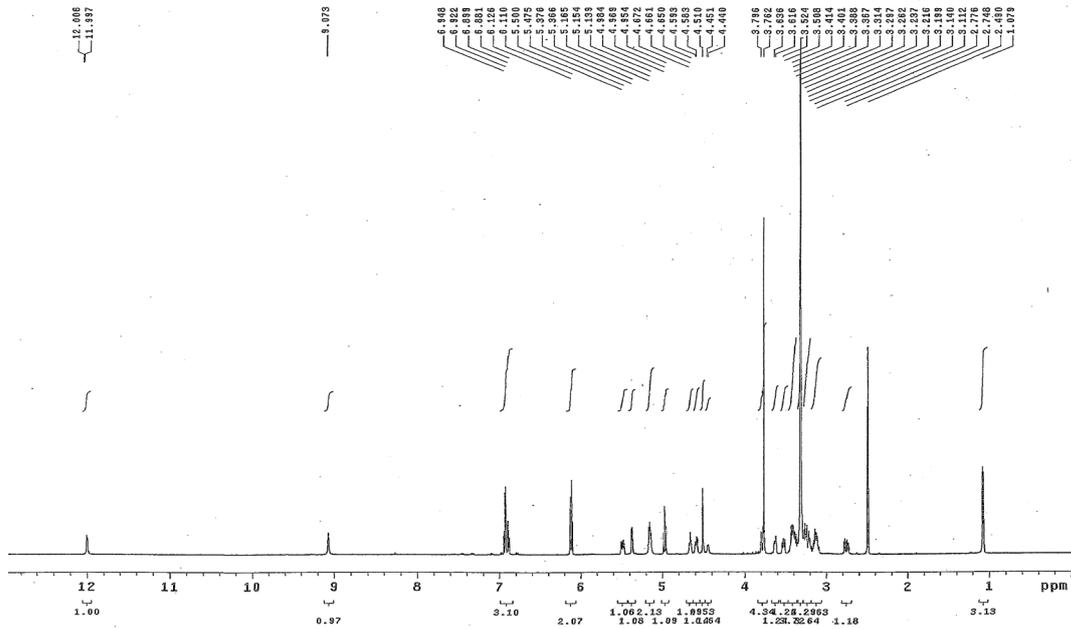
分子式： $C_{28}H_{34}O_{15}$ ；分子量：610.56；熔點：258–262 °C；白色粉末。

(十五) 橙皮苷的結構



(十六) 橙皮苷的  $^1\text{H}$  NMR 圖譜

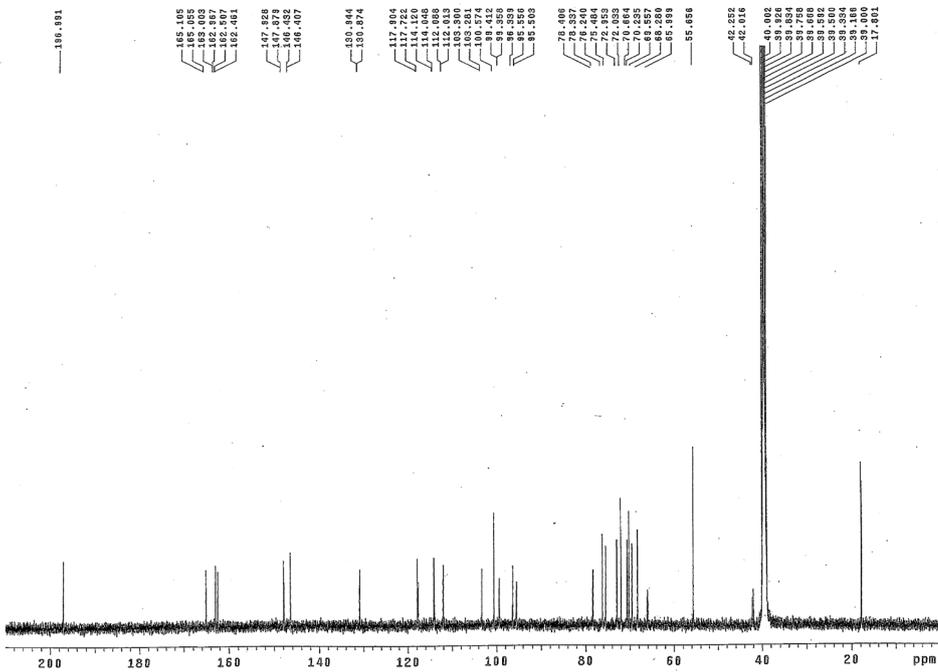
Hesperidin\_DMSO\_500 2020/05/13



圖九、橙皮苷的  $^1\text{H}$  NMR 圖譜(DMSO- $d_6$ )

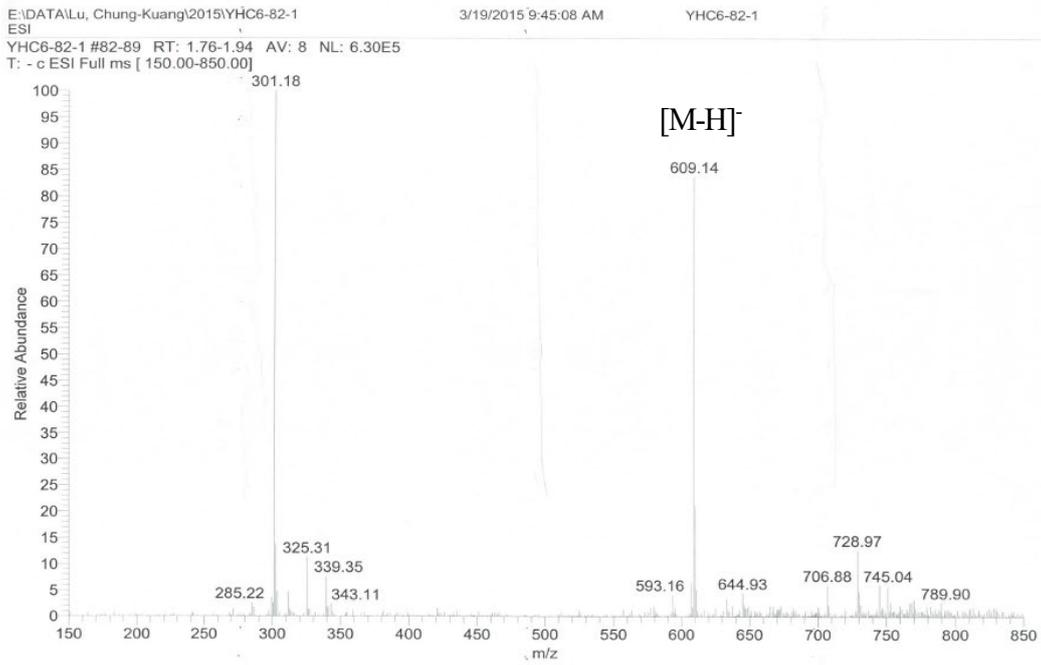
(十七) 橙皮苷的  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜

Hesperidin\_DMSO\_500 2020/05/12



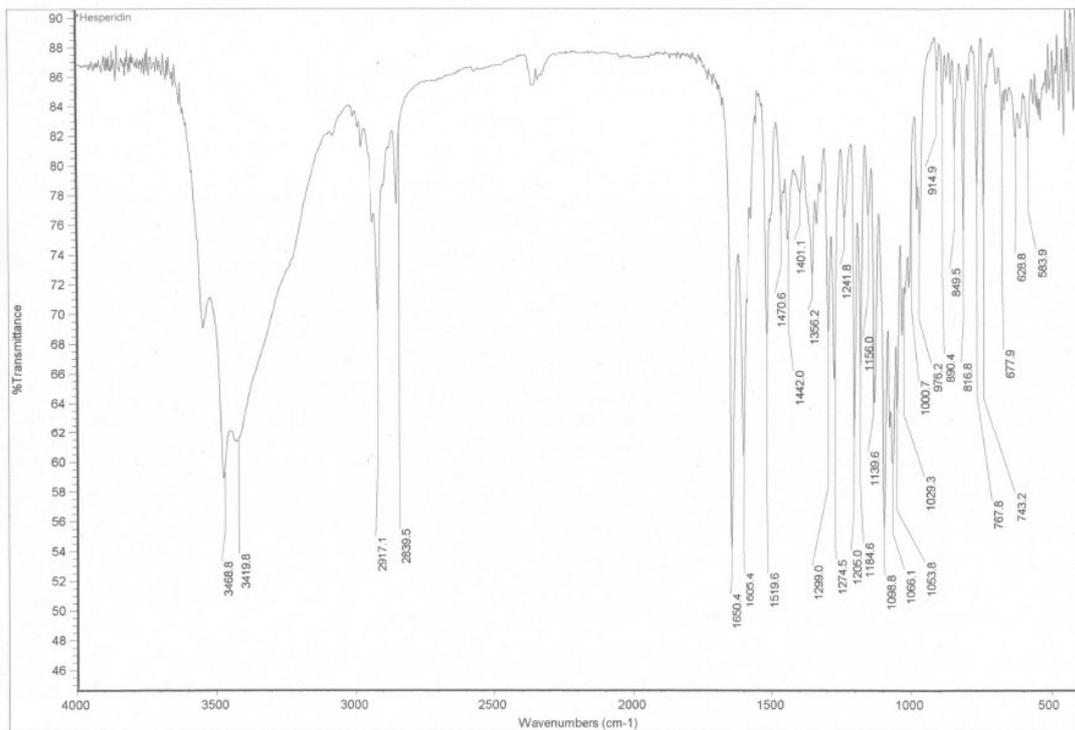
圖十、橙皮苷的  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜(DMSO- $d_6$ )

(十八) 橙皮苷的 ESI-MS 圖譜



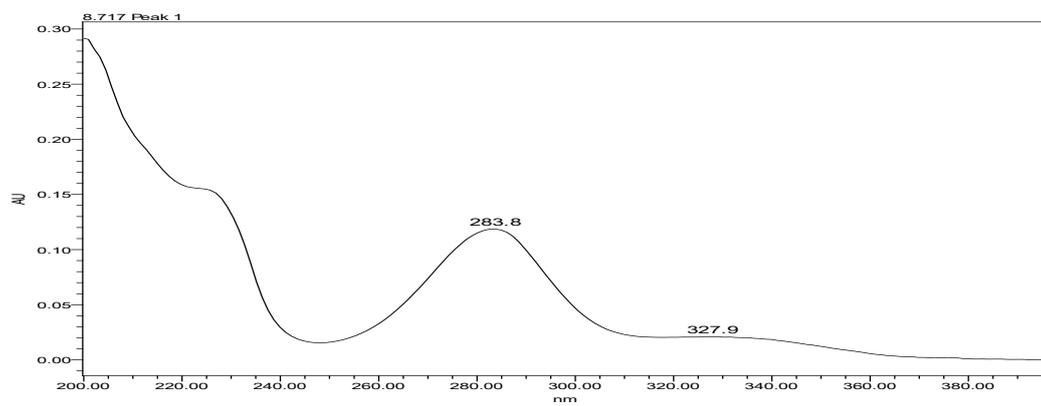
圖十一、橙皮苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 橙皮苷的 FTIR 圖譜



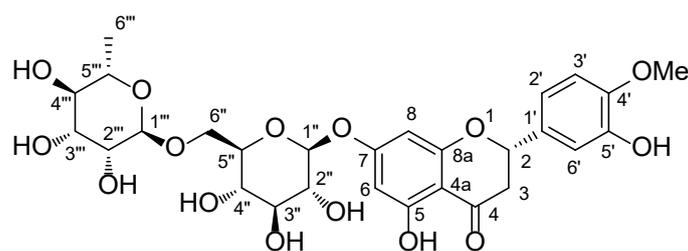
圖十二、橙皮苷的 FTIR 圖譜

(二十) 橙皮苷的 UV 圖譜



圖十三、橙皮苷的 UV 圖譜

(二十一) 橙皮苷的氫、碳化學位移



橙皮苷

表七、橙皮苷的氫、碳化學位移(DMSO-*d*<sub>6</sub>)<sup>a</sup>

position	$\delta_H$ (500 MHz)	$\delta_C$ (125 MHz)
1	-	-
2	5.47 (dd, 12.5, 3.0)	78.3
3	2.73–2.78 (m), 3.20–3.30 (m)	42.0
4	-	197.0
4a	-	103.3
5	-	163.0
6	6.13 (d, 2.5)	96.3
7	-	165.1
8	6.11 (d, 2.5)	95.5
8a	-	162.5
1'	-	130.9
2'	6.88(dd, 8.5, 2.0)	117.9
3'	6.94 (d, 8.5)	112.0
4'	-	147.9
5'	-	146.4
6'	6.92 (d, 2.0)	114.1
1''	4.96 (d, 7.5)	99.4
2''	3.20–3.25 (m)	73.0
3''	3.26–3.30 (m)	76.2
4''	3.11–3.18 (m)	69.6
5''	3.51–3.54 (m)	75.5
6''	3.36–3.43 (m), 3.76–3.81 (m)	66.0
1'''	4.51 (d, 5.5)	100.6
2'''	3.62–3.64 (m)	70.2
3'''	3.36–3.43 (m)	70.7
4'''	3.11–3.18 (m)	72.0
5'''	3.36–3.43 (m)	68.3
6'''	1.07 (d, 6.5)	17.8

<sup>a</sup>(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

## 佛手柑飲片( CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS )

### 一、材料

購自於臺灣各地中藥店佛手柑飲片共 10 批。

### 二、儀器及層析管柱

#### (一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters 2695 Separation Module，包含 Waters 2996、Photodiode Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

#### (二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

### 三、實驗藥品及試劑來源

#### (一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck；乙酸購自於 Merck。

#### (二) 標準品

橙皮苷(Hesperidin)來自於中藥司，純度 98%以上。

### 四、方法

#### (一) 最佳萃取條件評估

佛手柑飲片最佳萃取條件同佛手柑藥材。

#### (二) 最佳萃取時間評估

佛手柑飲片最佳萃取時間同佛手柑藥材。

#### (三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品橙皮苷 1.5 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含橙皮苷 150 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 15 μg/mL 製成對照標準品溶液。

#### (四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 25 mL，加熱迴流 1 小時，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22  $\mu\text{m}$ )，即得。

#### (五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10  $\mu\text{L}$ ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中橙皮苷的含量，即得。

#### (六) 檢量線

準確吸取橙皮苷標準品儲備溶液適量(150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，以甲醇稀釋成含橙皮苷分別為 100、50、30、15、5.0、3.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的標準品溶液。以上溶液各取 10  $\mu\text{L}$  分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式  $y = ax + b$  與相關係數  $R^2$ 。

#### (七) 精密度試驗

以橙皮苷為 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以橙皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

#### (八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售佛手柑飲片粉末，依佛手柑飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份佛手柑飲片檢品溶液，進樣測定，以橙皮苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售佛手柑飲片粉末，依佛手柑飲片檢品溶液製備方法製備佛手柑飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以橙皮苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

#### (九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 3:1$  時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 10:1$  時之濃度，作為定量極限估計值。

#### (十) 添加回收率試驗

取已知橙皮苷含量的佛手柑飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.5 g，分別加入 1 mL 的橙皮苷溶液(0.2 mg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 284 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	35	65
30	35	65

(十二) 臺灣市售佛手柑飲片含量測定

取 10 批市售佛手柑飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品橙皮苷的百分含量。

(十三) 佛手柑飲片檢品之 UPLC 層析條件

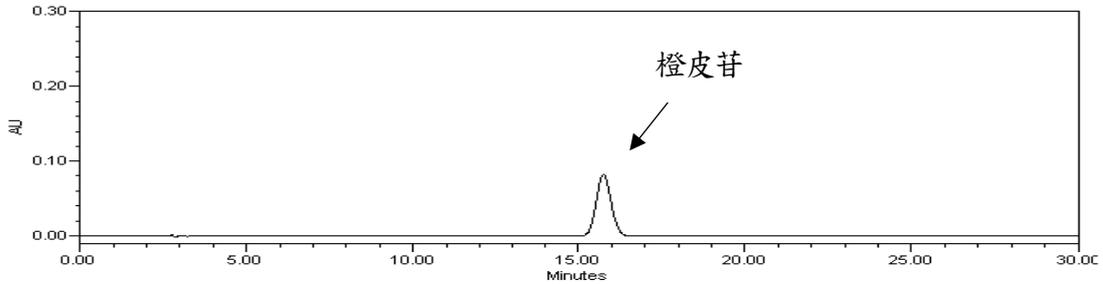
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 284 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	1%乙酸(v/v, %)
0	35	65
10	35	65

## 五、結果

### (一) 標準品橙皮苷之 HPLC 層析

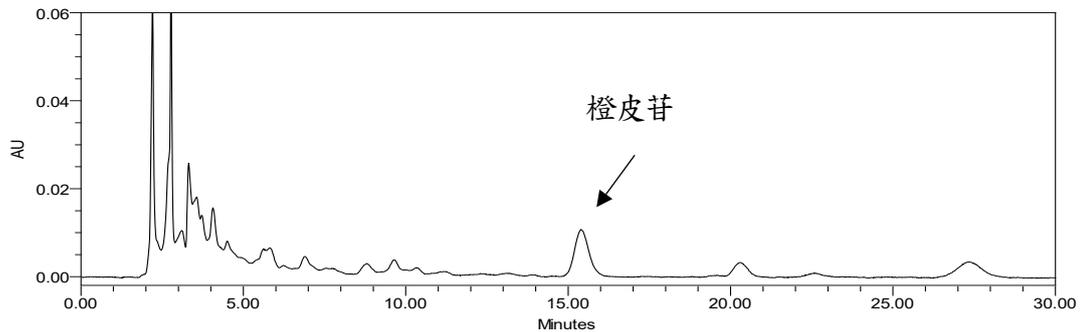
於滯留時間 15.76 分鐘處顯示橙皮苷標準品波峰(圖一)。



圖一、橙皮苷標準品溶液之 HPLC 層析圖

### (二) 市售佛手柑飲片檢品之 HPLC 層析

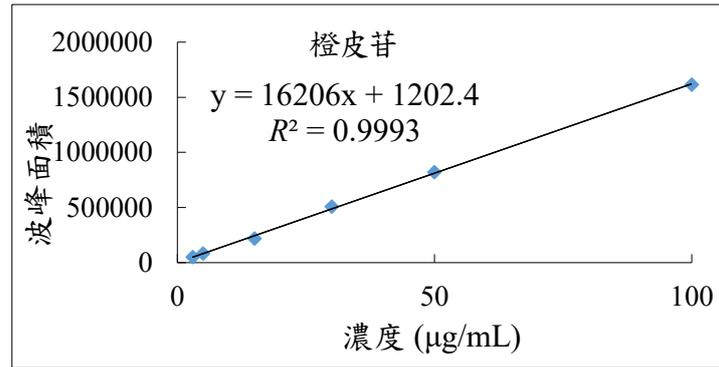
於滯留時間 15.40 分鐘處顯示佛手柑檢品中橙皮苷波峰(圖二)。橙皮苷分離率( $R$ )為 2.92，拖尾因子( $T$ )為 1.13，均在系統適用性要求內。



圖二、市售佛手柑飲片檢品之 HPLC 層析圖

### (三) 標準品橙皮苷檢量線

經不同濃度橙皮苷( $x$ )對各自層析波峰面積的反應值( $y$ )所得到的檢量線方程式為  $y = 16206x + 1202.4$ ， $R^2 = 0.9993$ ，顯示濃度在 3.0–100  $\mu\text{g/mL}$  有良好的線性關係(圖三)。



圖三、橙皮苷之檢量線圖

表一、橙皮苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R <sup>2</sup>
橙皮苷	3.0–100	y = 16206x + 1202.4	0.9993

(四) 精密度試驗

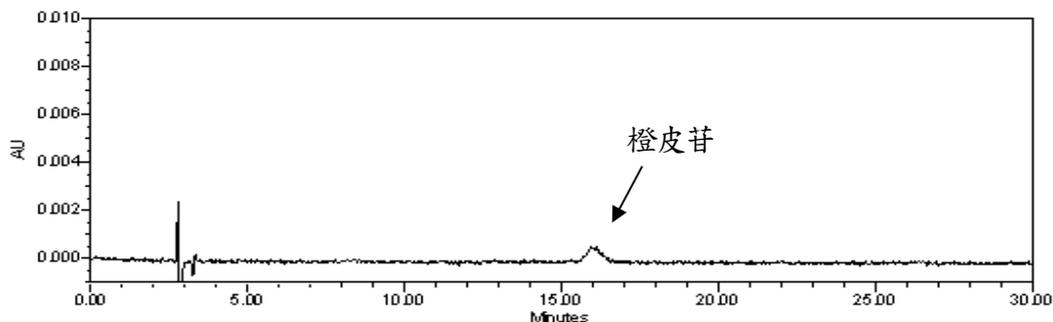
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，橙皮苷精密度之相對標準差為 0.22%，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

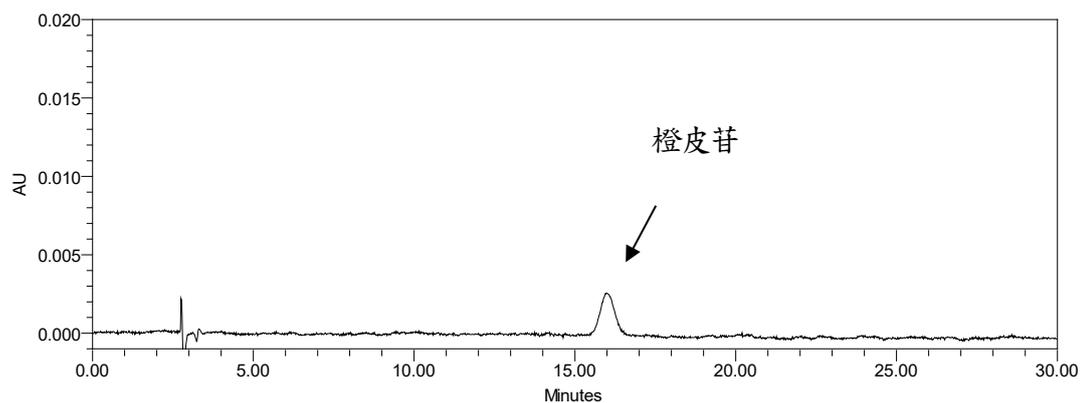
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，橙皮苷重複性之相對標準差為 1.79%，在系統適用性要求內。橙皮苷在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準為 0.49%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

橙皮苷偵測極限為 1.0 µg/mL (圖四)，定量極限為 3.0 µg/mL (圖五)。



圖四、橙皮苷之偵測極限層析圖



圖五、橙皮苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	橙皮苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	15 µg/mL	0.22
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.79
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.5)	0.49
偵測極限 (n=3)	1.0 µg/mL	-
定量極限 (n=3)	3.0 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

橙皮苷平均添加回收率為 92.6%，相對標準偏差為 1.48%。

表三、橙皮苷添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.50	0.1618	0.20	0.3512	94.70	92.64	1.48
2	0.50	0.1618	0.20	0.3476	92.89		
3	0.50	0.1618	0.20	0.3460	92.09		
4	0.50	0.1618	0.20	0.3469	92.56		
5	0.50	0.1618	0.20	0.3437	90.94		

(八) 臺灣市售佛手柑飲片含量測定

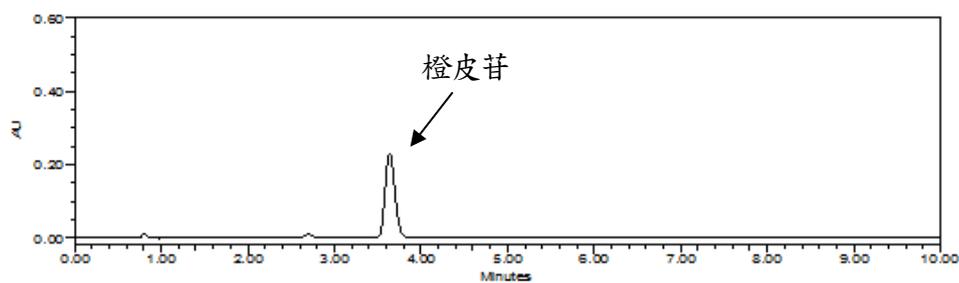
10 批佛手柑飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，橙皮苷的含量為 0.036–0.151%，建議佛手柑飲片指標成分橙皮苷的含量不得少於 0.03%。理論板數按橙皮苷波峰計算應不低於 5000 (實際值為 5785)。

表四、臺灣市售佛手柑飲片檢品之橙皮苷的含量

藥材編號(No.)	橙皮苷含量(%)
1 (NDA)	0.071
2 (NF)	0.064
3 (NN)	0.048
4 (CA)	0.043
5 (CB)	0.045
6 (SC)	0.053
7 (SE)	0.063
8 (SH)	0.151
9 (SG)	0.036
10 (SU-4)	0.059
平均值±S.D.	0.063±0.033

(九) 標準品橙皮苷之 UPLC 層析

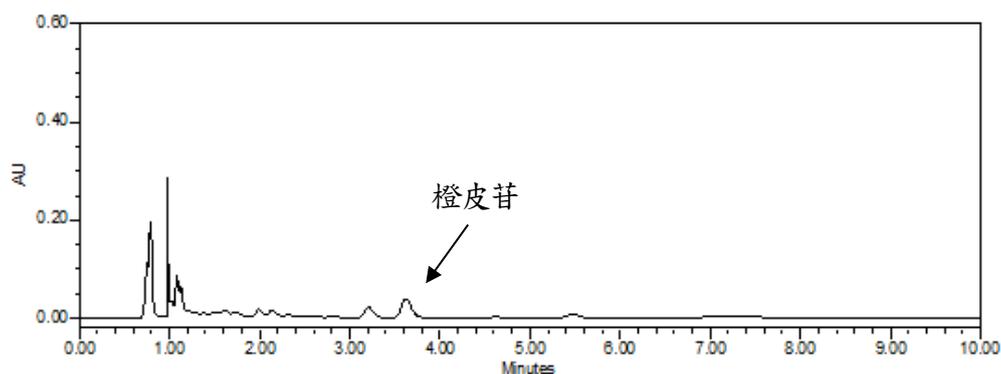
於滯留時間 3.63 分鐘處顯示橙皮苷標準品的波峰(圖六)。



圖六、橙皮苷標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售佛手柑飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.62 分鐘處顯示佛手柑飲片檢品中橙皮苷的波峰(圖七)。



圖七、市售佛手柑飲片檢品之 UPLC 層析圖

## 佛手柑

生藥名：CITRI SARCODACTYLIS FRUCTUS

英文名：Finger Citron

基 原：本品為芸香科 Rutaceae 植物佛手柑 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle 之乾燥果實。

### 一、方法

- (一) 檢品溶液 **【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》,《中華人民共和國藥典 2020》✓**  
——取本品粉末 1.0 g, 加無水乙醇 10 mL, 超音波振盪 20 分鐘, 過濾, 濾液濃縮至乾, 殘渣加無水乙醇 0.5 mL 使之溶解, 作為檢品溶液。  
**【萃取方法 2】(自行開發)**  
——取本品粉末 1.0 g, 加無水乙醇 10 mL, 超音波振盪 20 分鐘, 過濾, 濾液作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品 取佛手柑對照藥材 1.0 g, 同臺灣中藥典第四版, 製成對照藥材溶液。
- (三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F<sub>254</sub>, 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (四) 展 開 劑 **【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》**  
——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)  
**【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》**  
——環己烷：乙酸乙酯 (3：1)  
**【展開劑 3】(自行開發)✓**  
——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)
- (五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘, 上行展開, 展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視 風乾後, 置於主波長 254 nm 及主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

## 二、萃法選擇及濃度測試

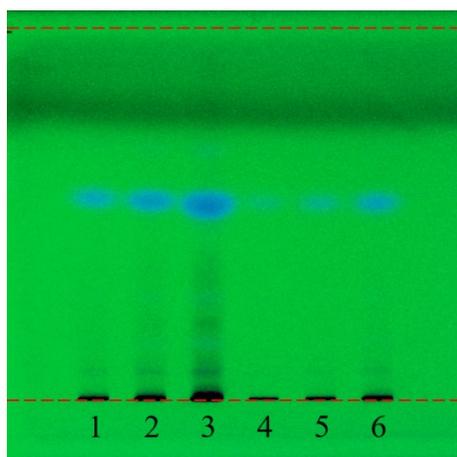
實驗日期：110/07/14

相對溼度(RH)：56%

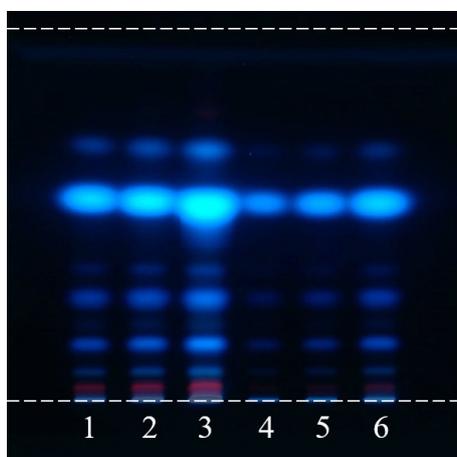
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	檢品溶液 2【萃取方法 1】	1, 2, 5 $\mu\text{L}$
4, 5, 6	檢品溶液 2【萃取方法 2】	2, 5, 8 $\mu\text{L}$

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有明顯分離主要條帶，因濃度適中，方法簡便，故維持臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：檢品溶液【萃取方法 1】2  $\mu\text{L}$ 。

### 三、溶媒系統選擇

實驗日期：110/07/14

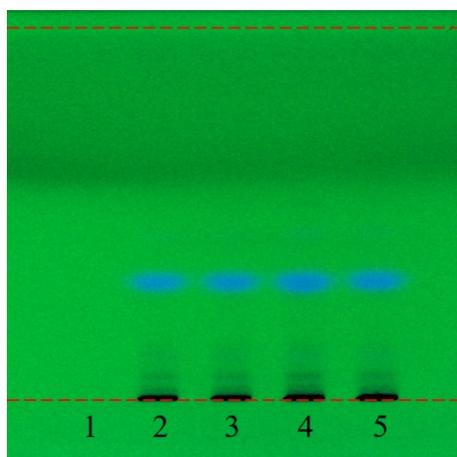
相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

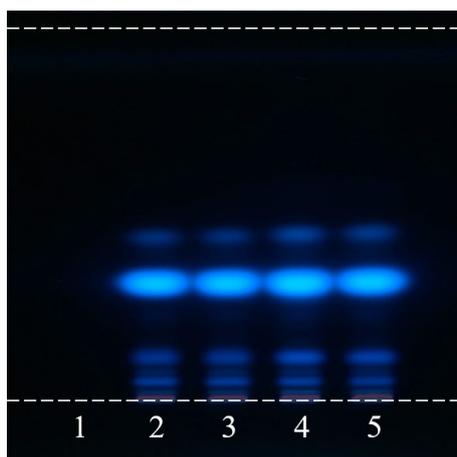
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



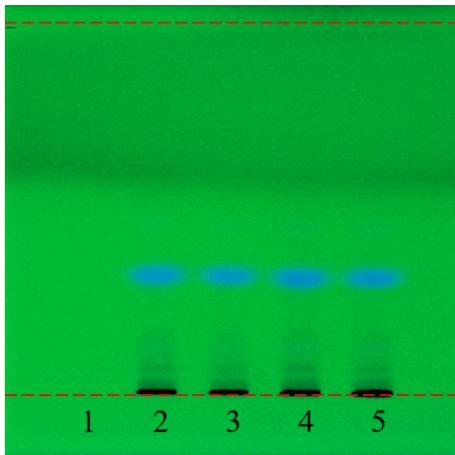
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

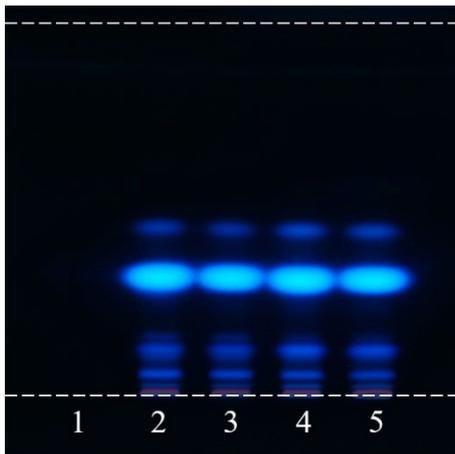


【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——環己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》  
—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出)



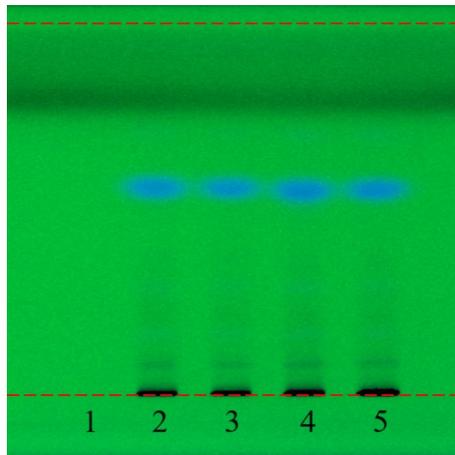
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》  
—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出)



【展開劑 3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2) ✓

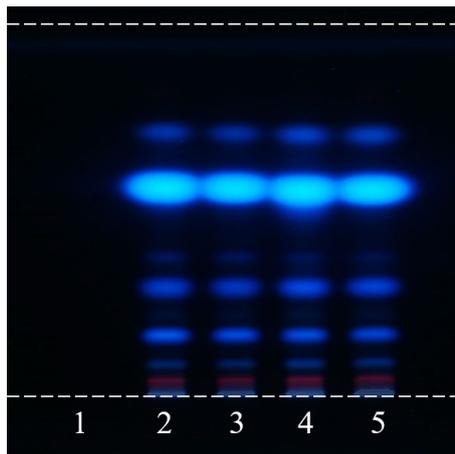
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出)



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出)



1：Blank

2，3：檢品溶液 2

4，5：對照藥材溶液

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式及【展開劑 3】展開條件下，由於分離效果較佳，故採用自行開發之【展開劑 3】。

#### 四、觀察方式選擇

實驗日期：110/07/14

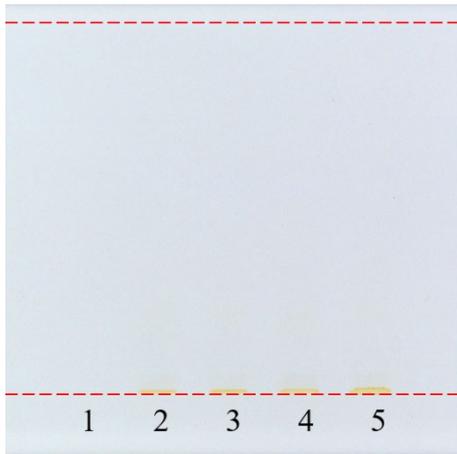
相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 3】 (自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

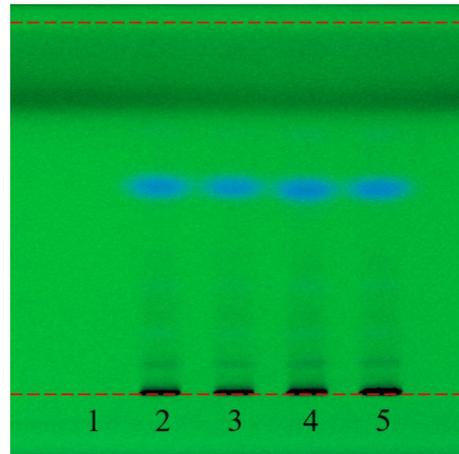
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 可見光檢出



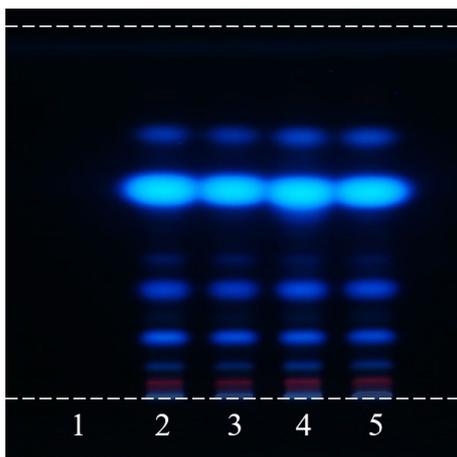
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2，3：檢品溶液 2

4，5：對照藥材溶液

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)檢視下，皆有較明顯分離之條帶。

## 五、十批佛手柑藥材樣品檢測

實驗日期：110/07/14

相對溼度(RH)：56%

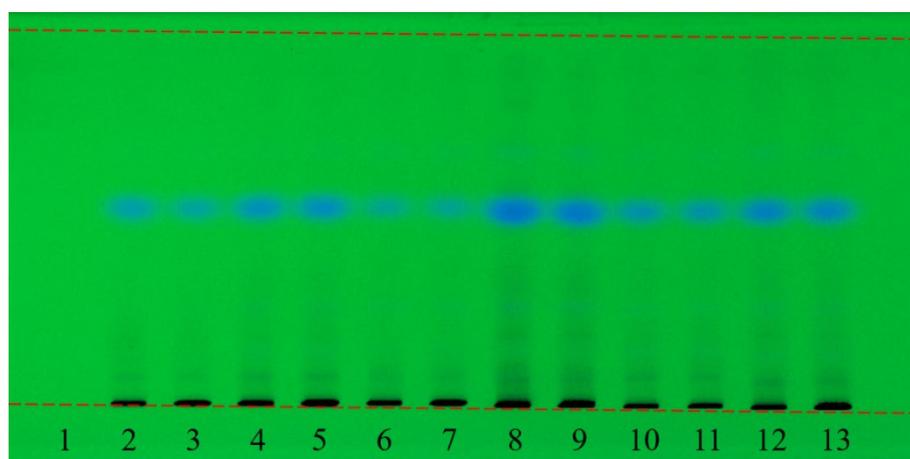
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

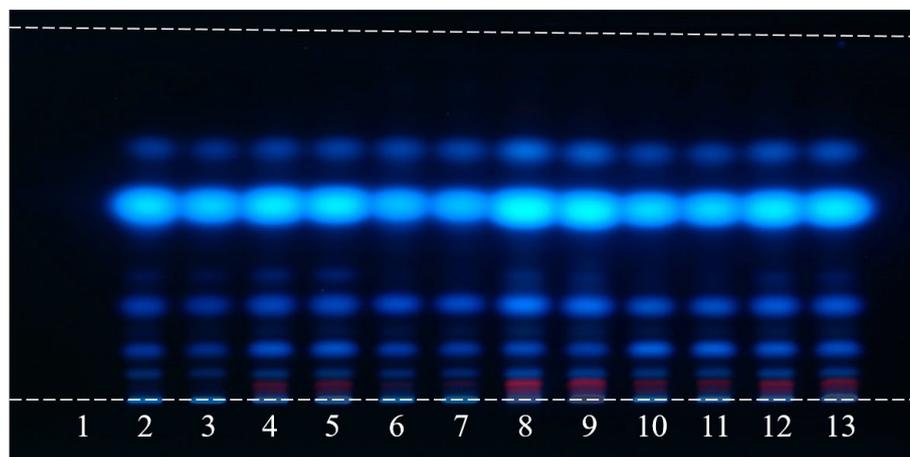
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

——HPTLC

(1) HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



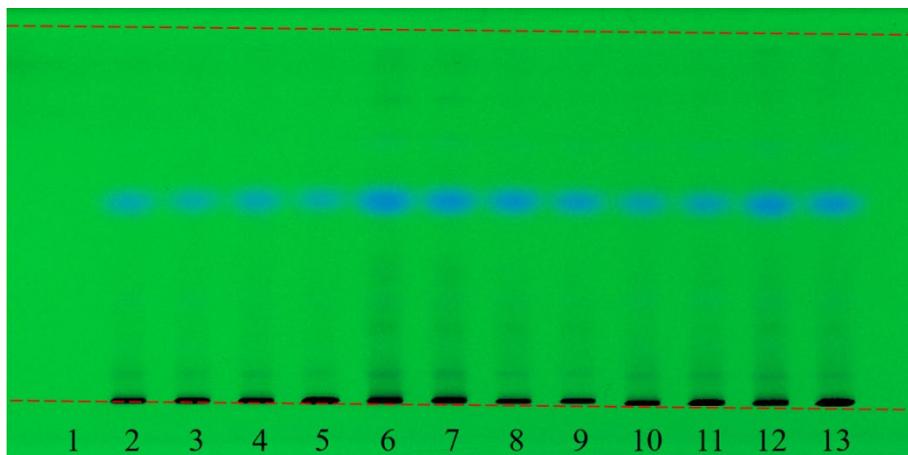
1	Blank	8, 9	檢品溶液 4 (NJ)
2, 3	檢品溶液 1 (ND1)	10, 11	檢品溶液 5 (CAA)
4, 5	檢品溶液 2 (ND2)	12, 13	對照藥材溶液
6, 7	檢品溶液 3 (NDB)		

【展開劑 3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

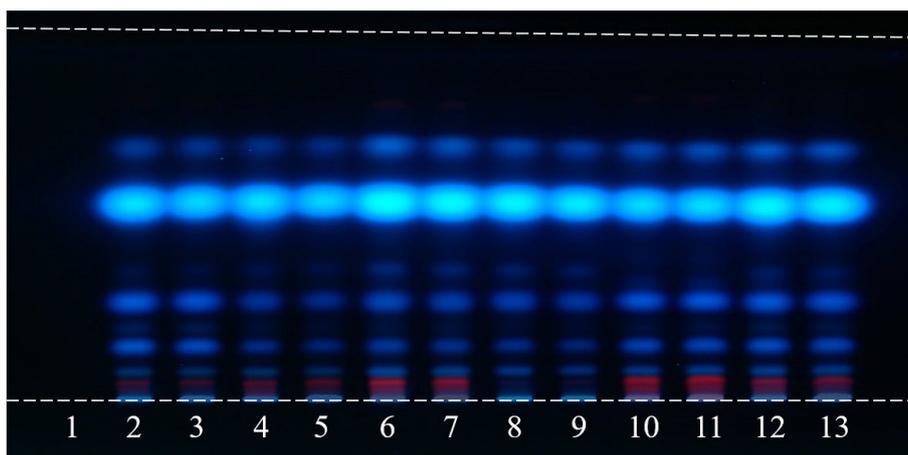
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

——HPTLC

(1) HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 9 (SU1)
2, 3	檢品溶液 6 (CF)	10, 11	檢品溶液 10 (SU3)
4, 5	檢品溶液 7 (CH)	12, 13	對照藥材溶液
6, 7	檢品溶液 8 (SA)		

結論與建議：以【萃取方法 1】及【展開劑 3】方式，顯示分離與檢出效果較佳，於紫外光(254 nm)及紫外光(365 nm)下檢視較佳。

## 佛手柑(飲片)

### 六、十批佛手柑飲片樣品檢測

實驗日期：110/07/14

相對溼度(RH)：56%

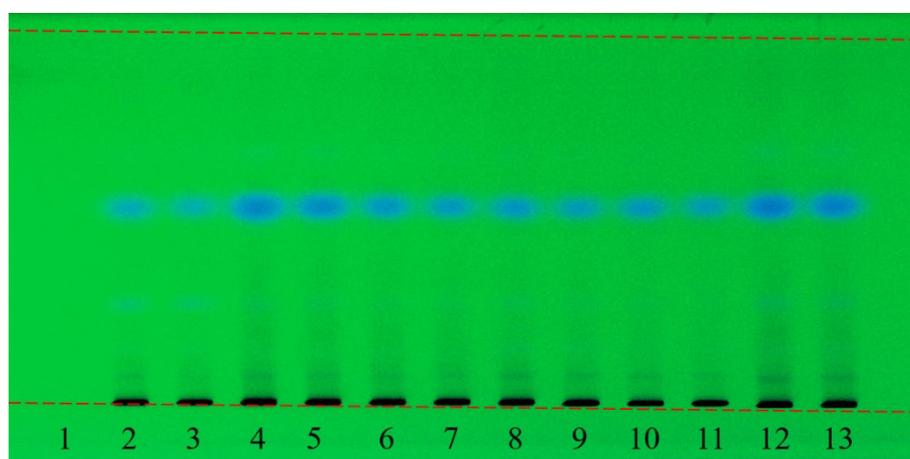
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

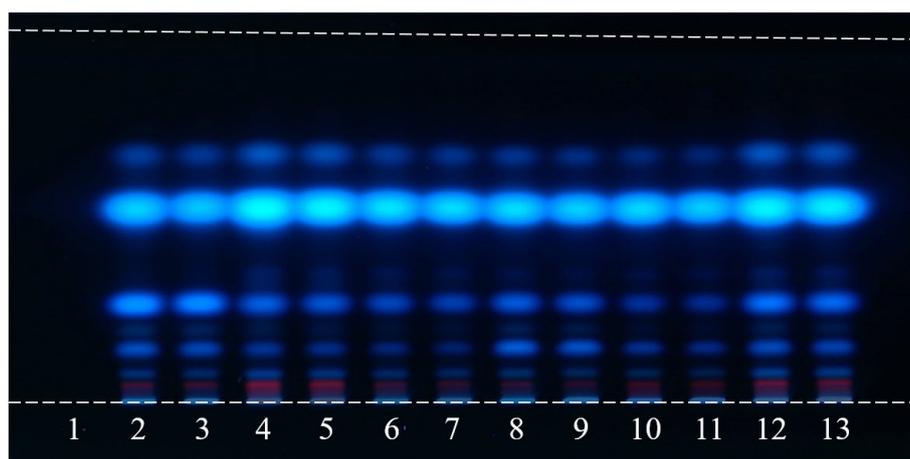
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

——HPTLC

(1) HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



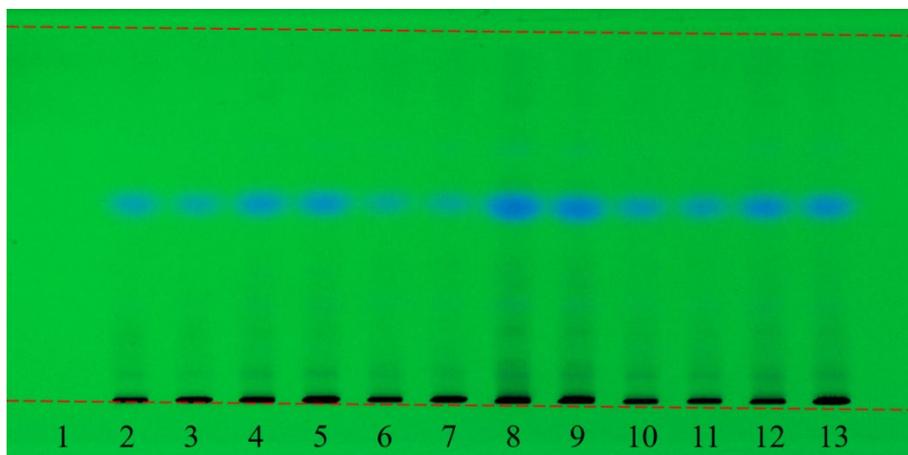
1	Blank	8, 9	檢品溶液 4 (CA)
2, 3	檢品溶液 1 (NDA)	10, 11	檢品溶液 5 (CB)
4, 5	檢品溶液 2 (NF)	12, 13	對照藥材溶液
6, 7	檢品溶液 3 (NN)		

【展開劑3】(自行開發)——正己烷：乙酸乙酯 (3：2)

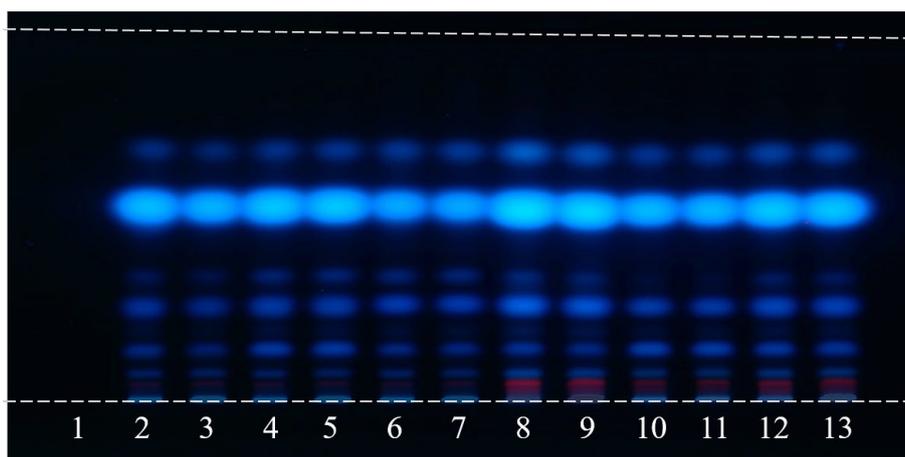
【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版 2021》，《中華人民共和國藥典 2020》

——HPTLC

(1) HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	8, 9	檢品溶液 9 (SG)
2, 3	檢品溶液 6 (SC)	10, 11	檢品溶液 10 (SU4)
4, 5	檢品溶液 7 (SE)	12, 13	對照藥材溶液
6, 7	檢品溶液 8 (SH)		

結論與建議：飲片鑑別同藥材。