

赤茯苓

(RUBRA PORIA)

赤茯苓 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).....	2
四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3).....	2

赤茯苓 HPLC

一、材料.....	6
二、儀器及層析管柱.....	6
三、實驗藥品及試劑來源.....	6
四、方法.....	6
五、結果.....	10

赤茯苓 TLC

一、方法.....	21
二、萃法選擇及濃度測試.....	22
三、溶媒系統選擇.....	23
四、觀察方式選擇.....	24
五、十批赤茯苓樣品檢測.....	25

赤茯苓

(RUBRA PORIA)

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赤茯苓的乾燥菌核。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：赤茯苓

生藥名：RUBRA PORIA

英文名：Red Poria

基原：多孔菌科 Polyporaceae 真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的乾燥菌核，淡紅色或淡棕色的部分。

採收加工：多於 7~9 月採挖，挖出後除去泥沙，堆置發汗後，攤開晾至表面乾燥，再發汗，反覆數次至呈現皺紋，內部水分大致散失後，陰乾，稱為茯苓個。茯苓個的淡紅色或淡棕色的部分，稱為赤茯苓。

藥材性狀：本藥材為類球形、橢圓形或不規則形之乾燥厚片，厚度寬 0.5~0.3 cm，外皮薄而粗糙，棕褐色至黑褐色，有明顯皺縮紋理，體重，質堅硬。斷面有顆粒性，有的具裂隙，內部淡紅色或淡棕色。氣微、味淡，嚼之略為黏牙。

生長分佈：生於向陽、溫暖的山坡，疏鬆、排水良好的沙質土壤。多寄生於松科植物赤松或馬尾松等樹根上。野生或栽培，主產於雲南、安徽、湖北、四川等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 本品橫切面呈白色，不規則顆粒狀團塊及散狀團塊。
2. 菌絲無色或白色，細長，稍彎曲，部分有分枝。
3. 近皮處為較細長且排列緻密的淡棕色菌絲。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末灰白色。
2. 外皮部分為無數菌絲組成。
3. 含有無數類卵形或不規則的顆粒狀物。
4. 可見不規則顆粒狀團塊和分枝狀團塊。
5. 菌絲無色或淡棕色，細長稍彎曲，部分有分支，直徑約 3~4 μm 。

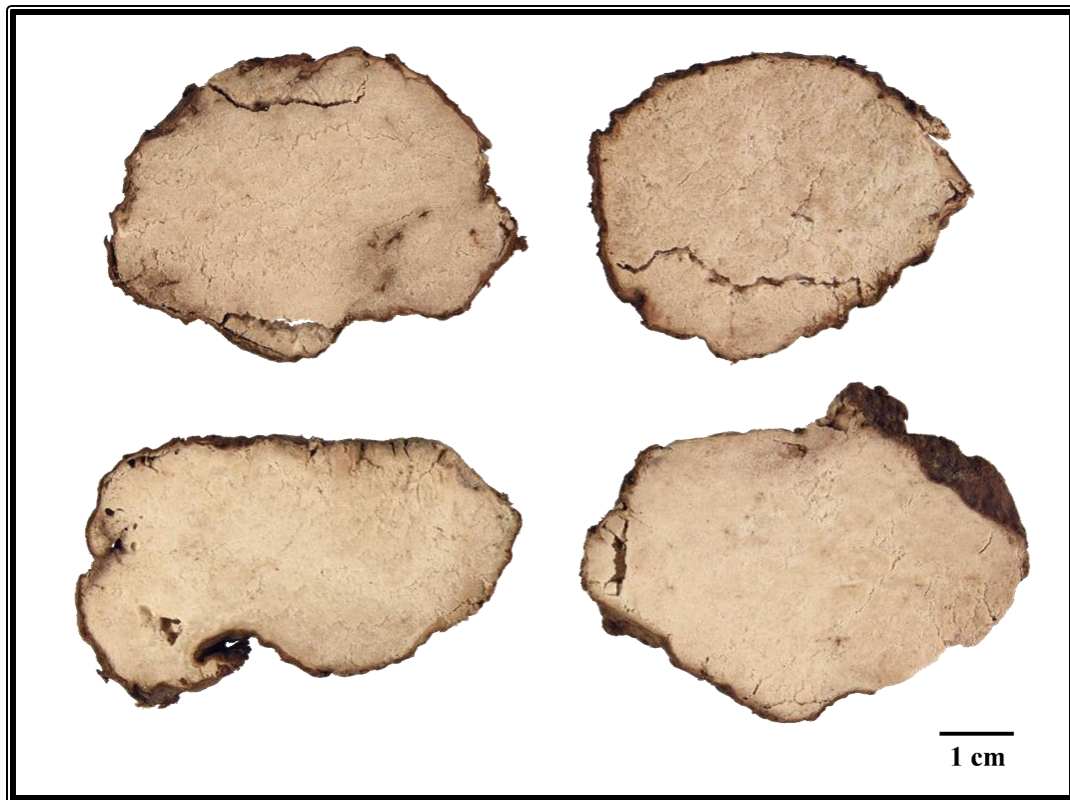


圖 1 赤茯苓藥材圖

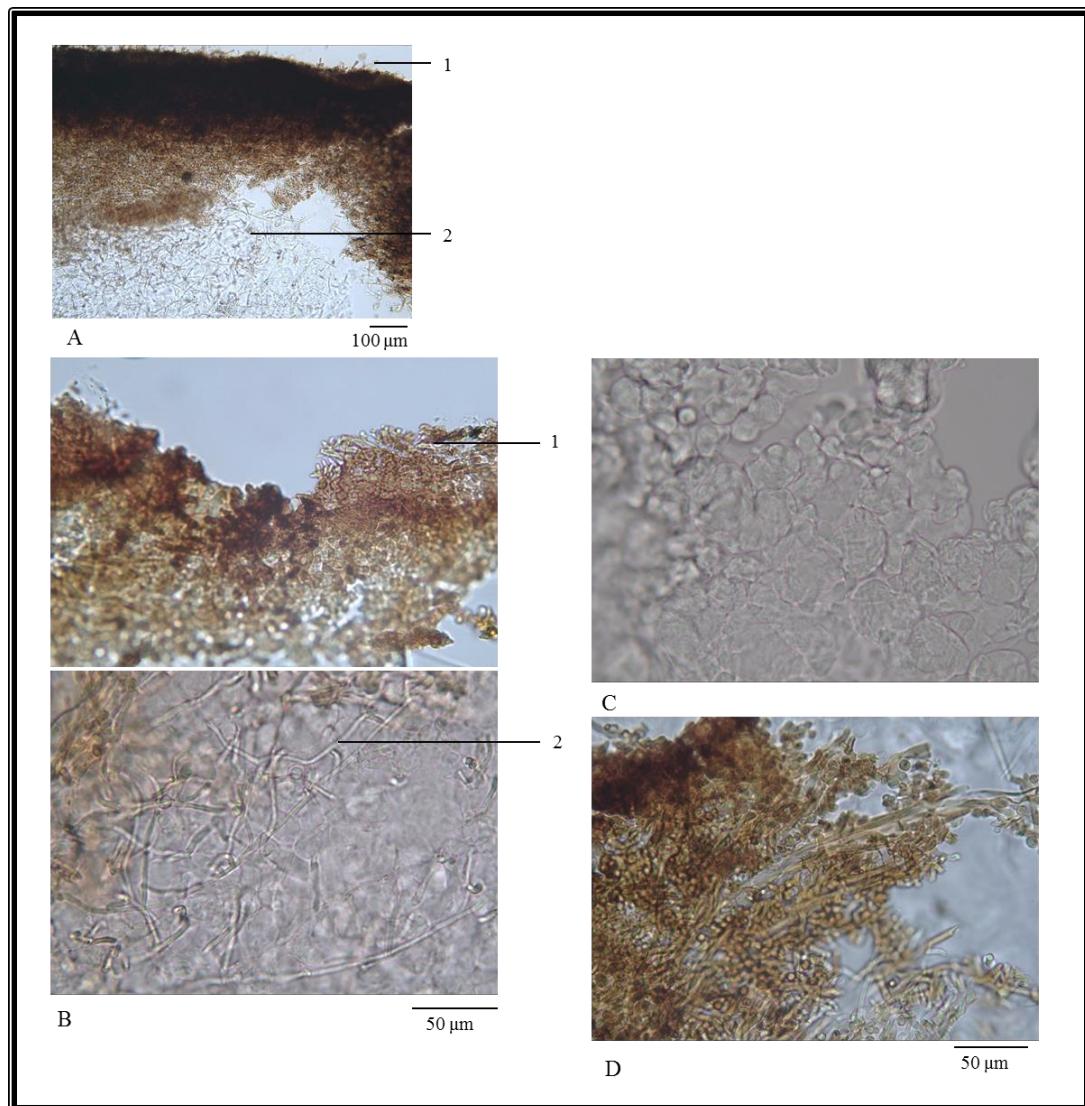


圖 2 赤茯苓橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.細胞團塊 D.淡棕色菌絲

1.淡棕色菌絲 2.無色菌絲

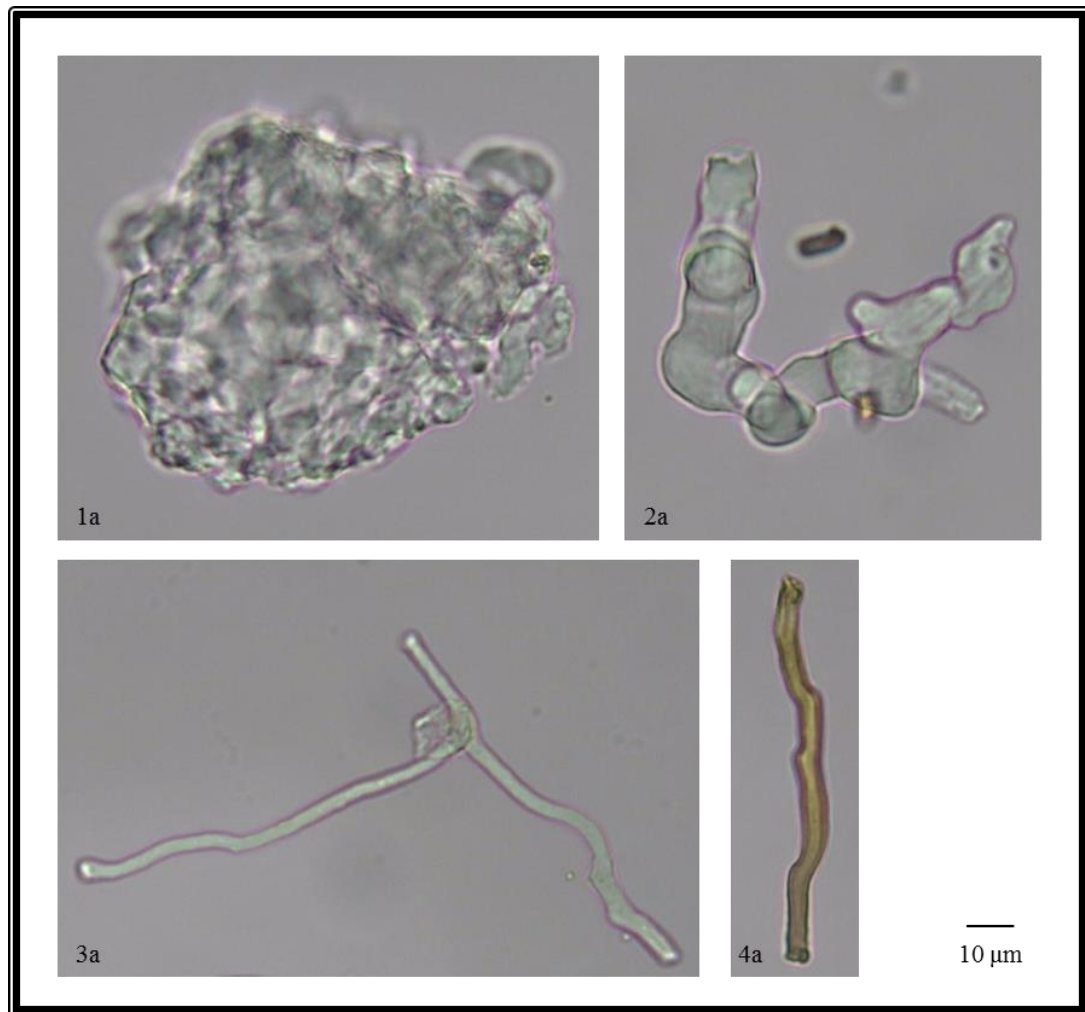


圖 3 赤茯苓粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵

1. 顆粒狀團塊 2. 分枝狀團塊 3. 無色菌絲 4. 棕色菌絲

赤茯苓(RUBRA PORIA)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店赤茯苓藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series，包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B；層析管柱 Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

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

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC Grade)購自於 DUKSAN PURE CHEMICALS；乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich Co.，乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；磷酸(85%+)購自於 Merck。

(二) 標準品

標準品茯苓酸(Pachymic acid)購自於昇漢科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取 1.0 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇和 50%乙醇各 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入高效能液相層析儀(HPLC)，以所測得之標準品茯苓酸最大波峰面積為最佳茯苓萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 2.0 g，置 50 mL 三角錐形瓶中，準確加入甲醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液轉移至 20 mL 定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μ m)，即得。每針 10 μ L 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到指標成分被萃取

完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品茯苓酸 1.0 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含茯苓酸 1000 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 50 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 2.0 g，置 50 mL 錐形瓶中，準確加入甲醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，減壓濃縮至少量，轉移至 25 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中茯苓酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取茯苓酸標準品儲備溶液適量(1000 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含茯苓酸分別為 750、500、250、100、50 及 30 µg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 µL 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

以茯苓酸濃度為 50 µg/mL 之標準品儲備液連續進樣 5 針，以茯苓酸的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售赤茯苓粉末，依赤茯苓檢品溶液製備方法平行製備 5 份赤茯苓檢品溶液，進樣測定，以茯苓酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售赤茯苓粉末，依赤茯苓檢品溶液製備方法製備赤茯苓檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以茯苓酸的波峰面積為指標，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 quantitation, 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

取已知茯苓酸含量的赤茯苓藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 1.0 g，分別加入 1 mL 的茯苓酸溶液(900 $\mu\text{g/mL}$)，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：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
20	100	0
23	100	0
25	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售赤茯苓含量測定

取 10 批市售赤茯苓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 公式計算樣品茯苓酸的百分含量。

(十三) 赤茯苓檢品之 UPLC 層析條件

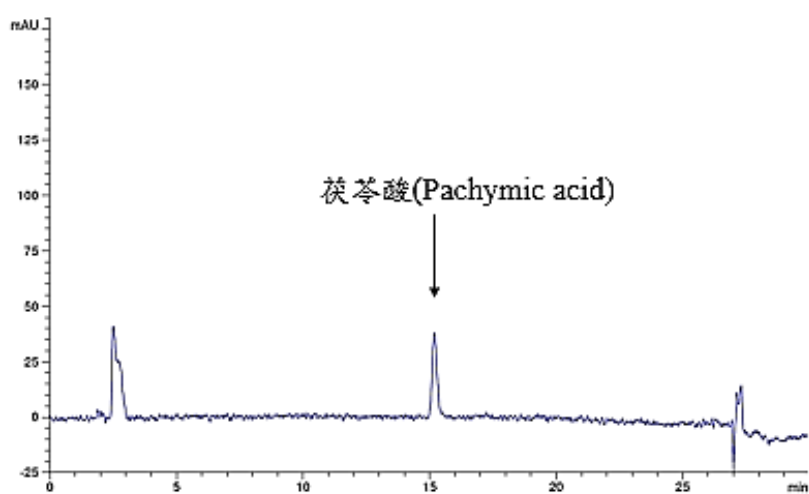
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1.0 μ L
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	60	40
10	90	10
11	100	0
13	100	0
15	60	40
18	60	40

五、結果

(一) 標準品茯苓酸之 HPLC 層析

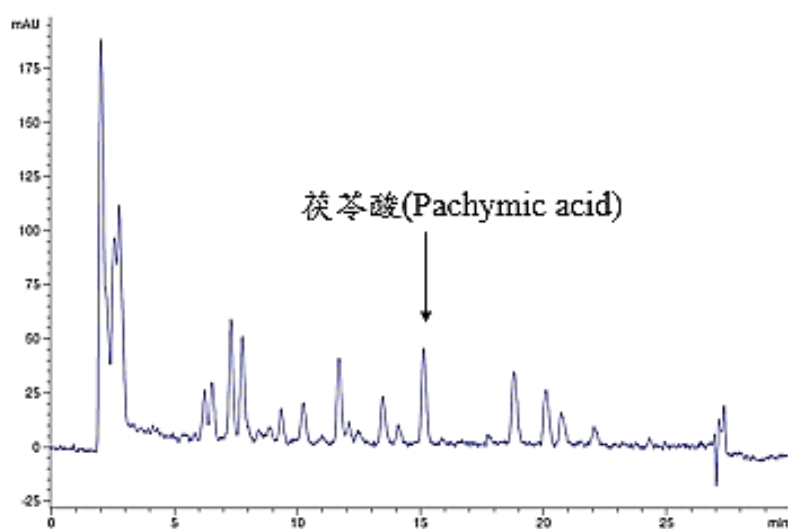
於滯留時間 15.0 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖一)。



圖一、茯苓酸標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售赤茯苓檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 15.0 分鐘處顯示茯苓檢品中茯苓酸的波峰(圖二)，分離率(R)為 3.019，托尾因子(T)為 1.022，均在系統適用性要求內。



圖二、市售赤茯苓檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得茯苓酸的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	650.1	√
75% 甲醇	623.3	
50% 甲醇	103.2	
95% 乙醇	625.0	
75% 乙醇	615.5	
50% 乙醇	124.0	

(四) 最佳萃取次數評估

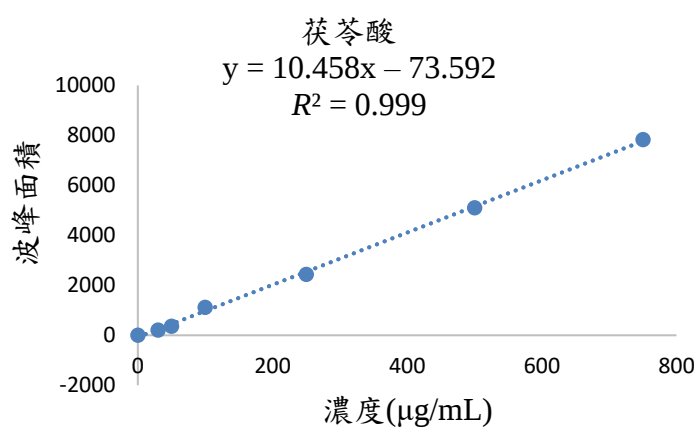
結果顯示萃取 2 次基本上已將茯苓酸萃取完全(萃取率大於 98%)

表二、茯苓檢品萃取次數評估

甲醇萃取次數	茯苓酸波峰面積
第 1 次	697.7
第 2 次	13.7
第 3 次	N.D.

(五) 標準品茯苓酸檢量線

經不同濃度茯苓酸 (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 $y = 10.458x - 73.592$ ， $R^2 = 0.999$ ，顯示濃度在 30–750 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、茯苓酸之檢量線圖

表三、茯苓酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
茯苓酸	30–750	$y = 10.458x - 73.592$	0.999

(六) 精密度試驗

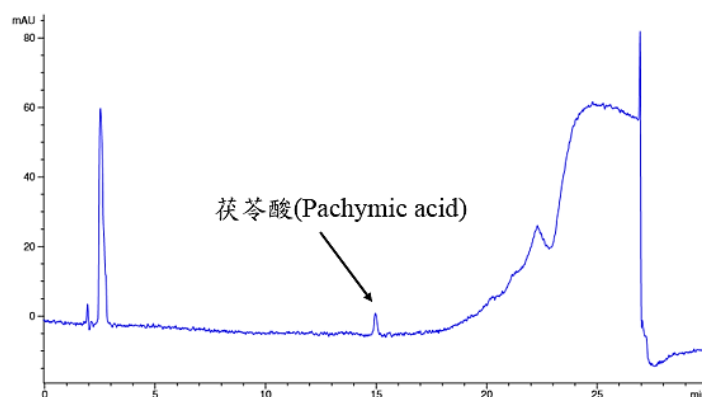
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，茯苓酸精密度之相對標準差為 0.54%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

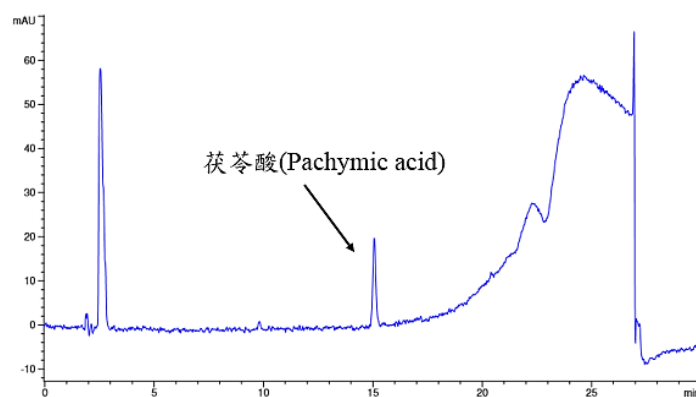
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，茯苓酸重複性之相對標準差為 1.00%，在系統適用性要求內。茯苓酸在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 2.79%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

茯苓酸偵測極限為 $10 \mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 $30 \mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、茯苓酸之偵測極限層析圖



圖五、茯苓酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	茯苓酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	50 µg/mL	0.54
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.00
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.5)	2.79
偵測極限 (n=1)	10 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	30 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

茯苓酸平均添加回收率為 101.8%，相對標準偏差為 3.15%。

表五、茯苓酸添加回收率

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	1.03	0.88	0.9	1.81	104.3	101.78	3.15
2	1.02	0.87	0.9	1.73	96.4		
3	1.03	0.88	0.9	1.80	103.3		
4	1.07	0.91	0.9	1.84	103.6		
5	1.09	0.93	0.9	1.84	101.4		

(十) 臺灣市售赤茯苓含量測定

10 批赤茯苓藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，茯苓酸含量為 0.08%–0.10%。建議赤茯苓藥材指標成分茯苓酸含量的含量不得少於 0.05%。
建議理論板數按茯苓酸波峰計算應不低於 10000 (實際值為 30375)。

表六、臺灣市售赤茯苓檢品之茯苓酸含量

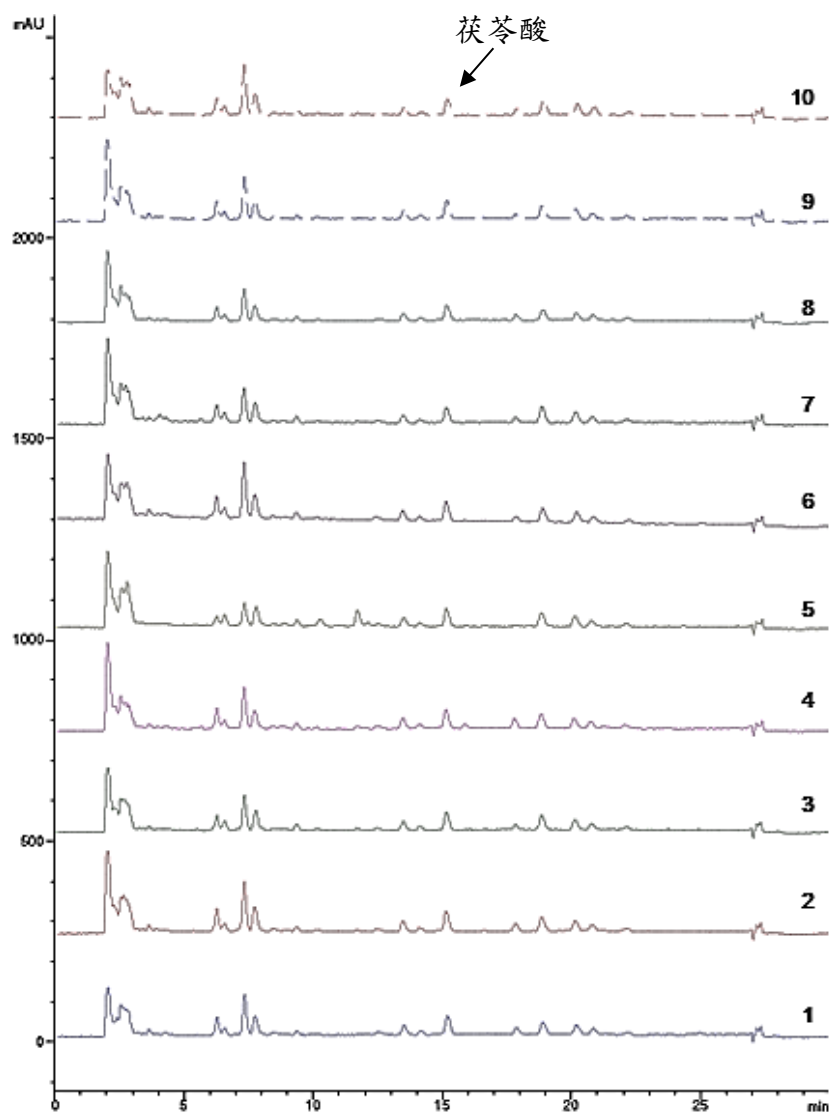
藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)	藥材編號(No.)	茯苓酸含量(%)
1 (CA)	0.10	6 (ST)	0.10
2 (NH)	0.10	7 (NF)	0.08
3 (NI)	0.09	8 (SJ)	0.08
4 (CG)	0.09	9 (SC)	0.10
5 (SR)	0.09	10 (NR)	0.08

(十一) 赤茯苓藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售赤茯苓檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 203 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

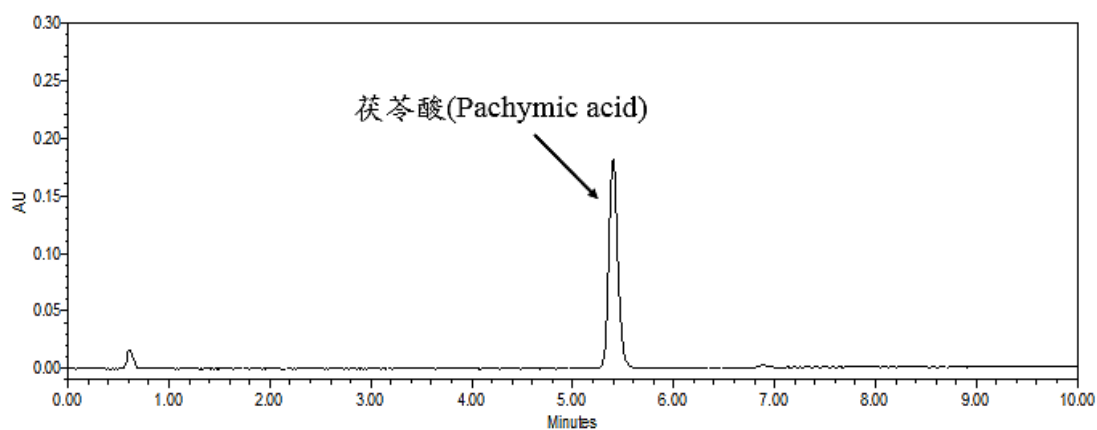
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	70	30
20	100	0
23	100	0
25	70	30
30	70	30



圖六、10 批赤茯苓藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品茯苓酸之 UPLC 層析

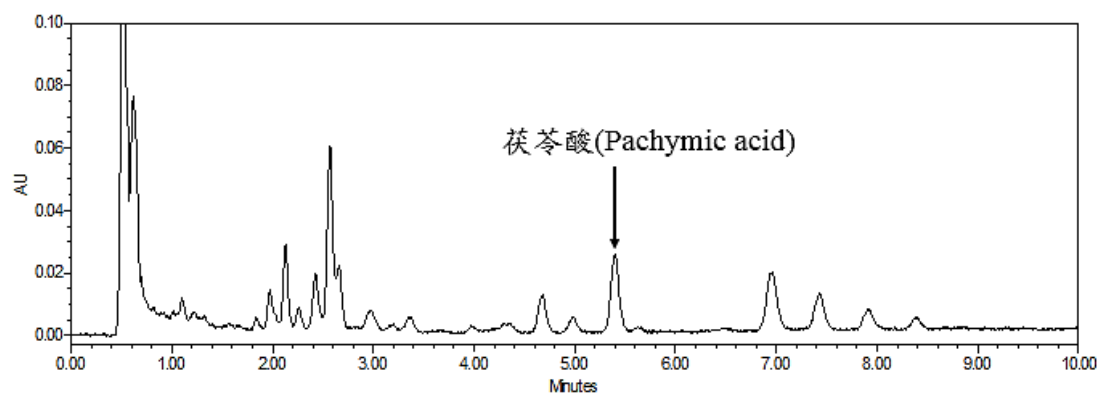
於滯留時間 5.4 分鐘處顯示茯苓酸標準品的波峰(圖七)。



圖七、茯苓酸標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售赤茯苓檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 5.4 分鐘處顯示赤茯苓檢品中茯苓酸的波峰(圖八)。

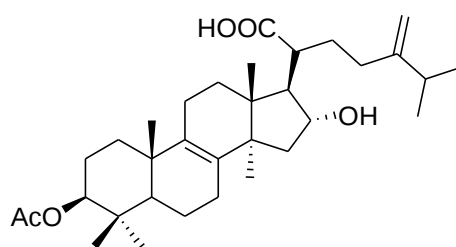


圖八、市售赤茯苓檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 茯苓酸的分子式、分子量與熔點

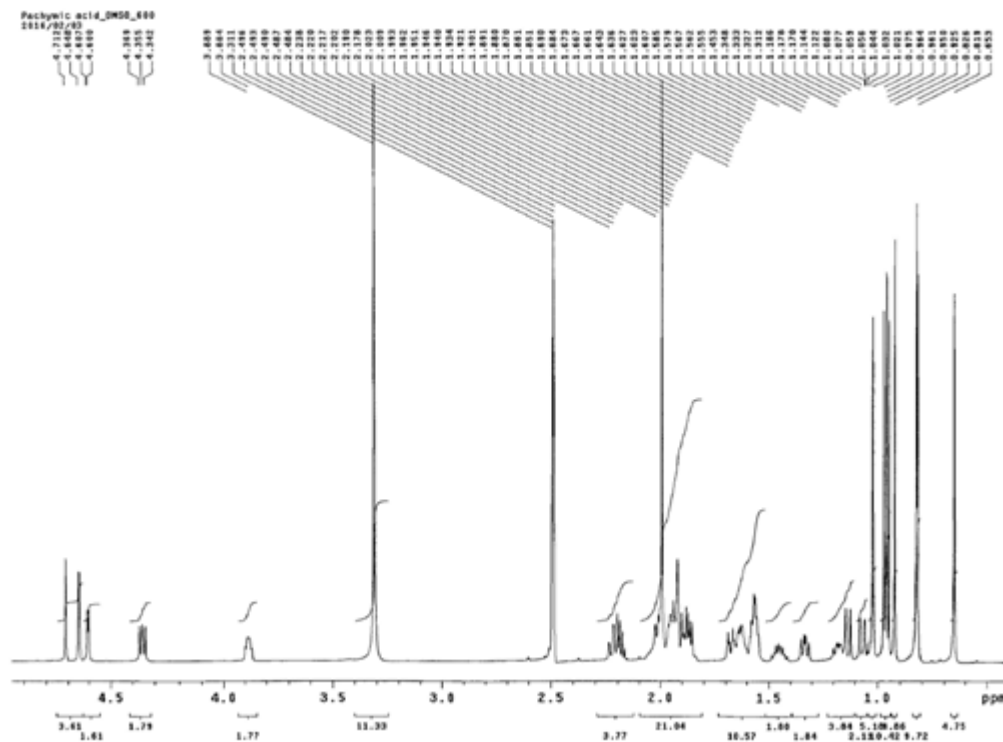
分子式： $C_{33}H_{52}O_5$ ；分子量：528.76；熔點：293–294 °C；白色固體。

(十五) 茯苓酸的結構



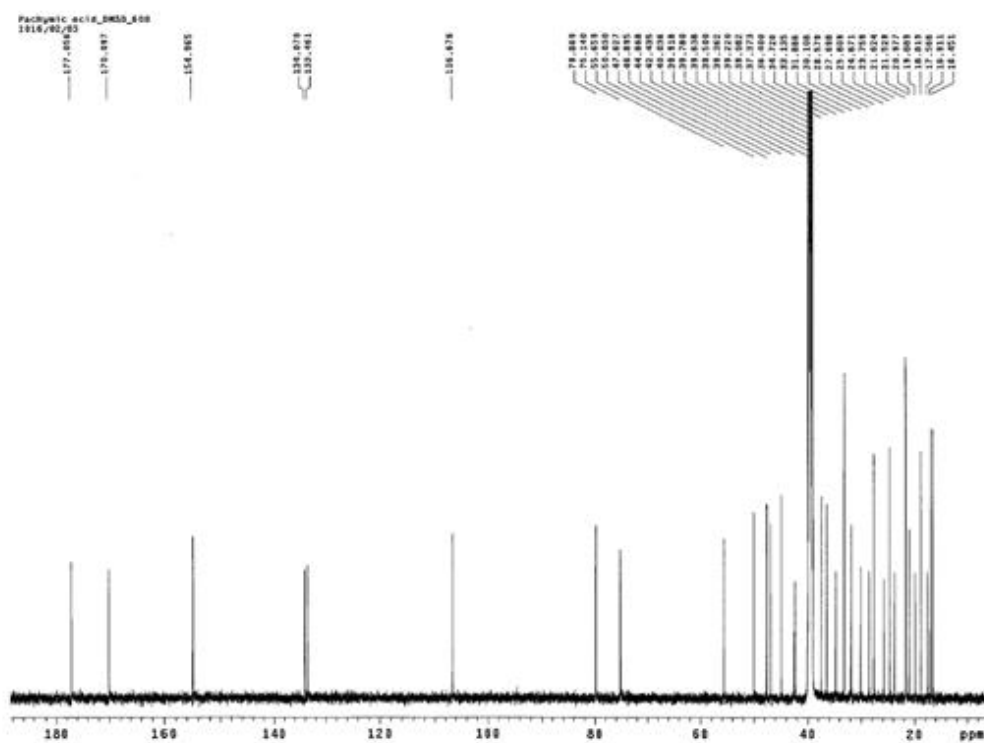
圖九、茯苓酸

(十六) 茯苓酸的 ^1H NMR 圖譜



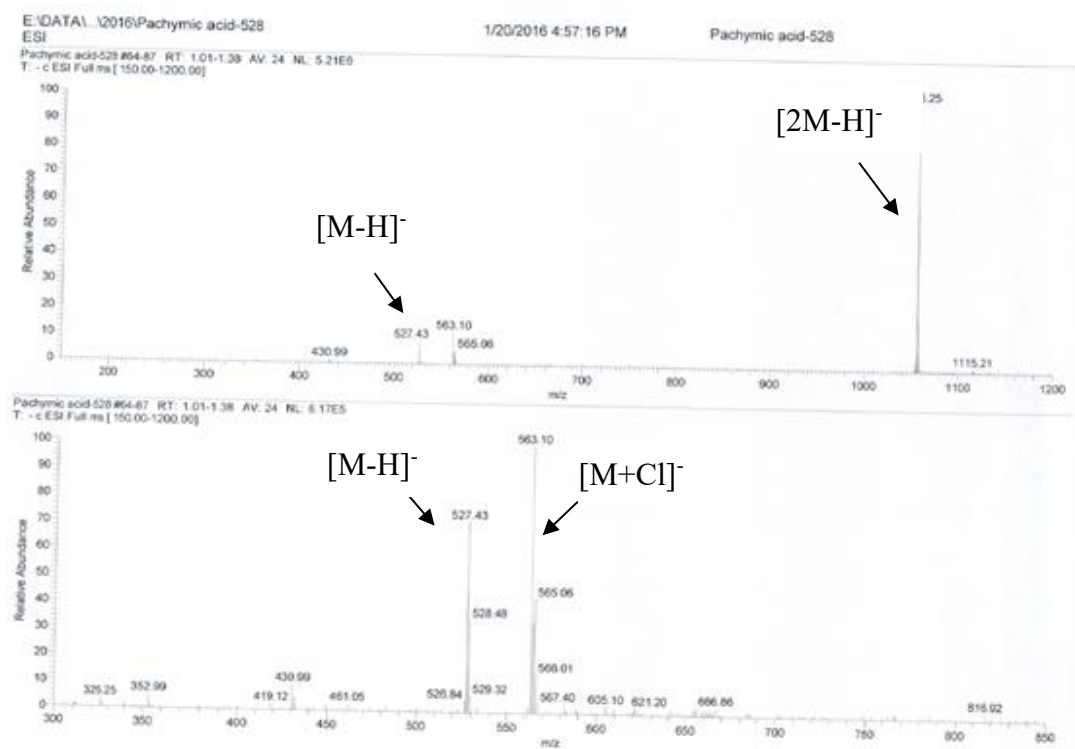
圖十、茯苓酸的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 茯苓酸的 ^{13}C NMR 圖譜



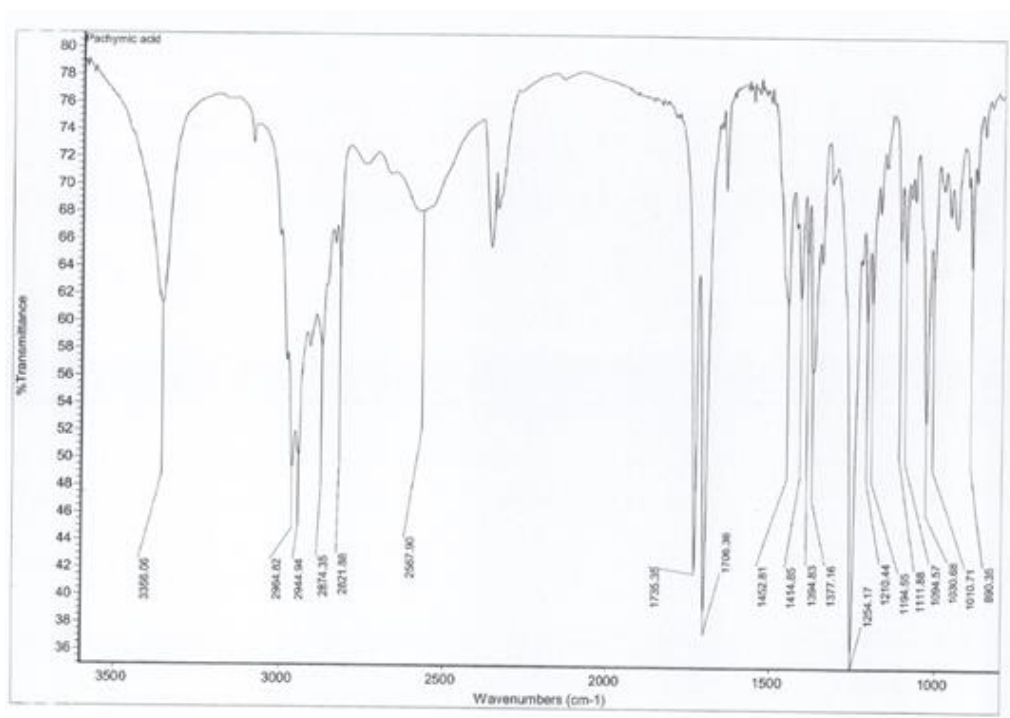
圖十一、茯苓酸的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 茯苓酸的 ESI-MS 圖譜



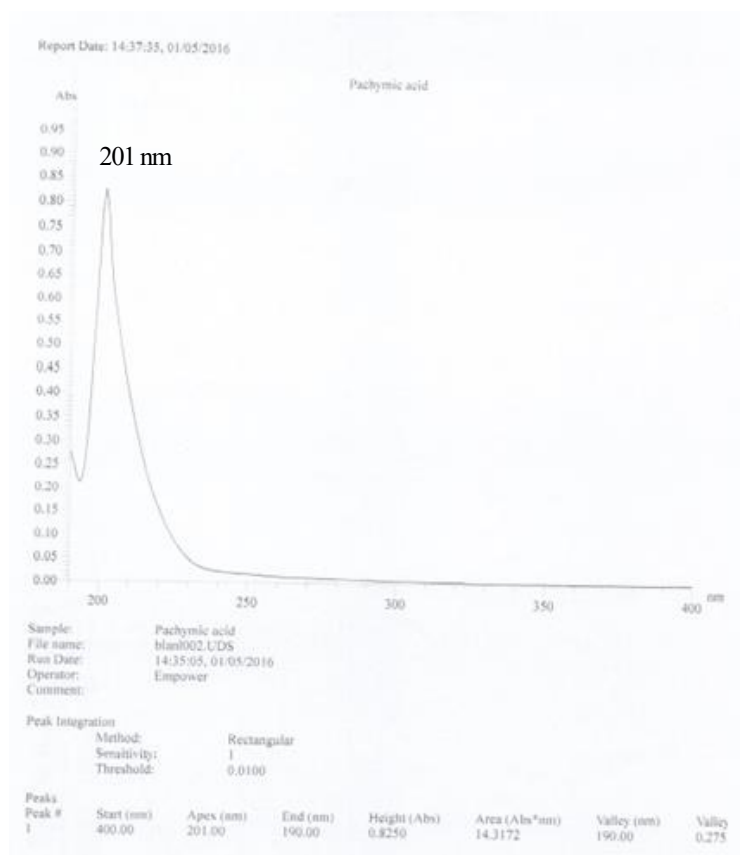
圖十二、茯苓酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 茯苓酸的 FTIR 圖譜



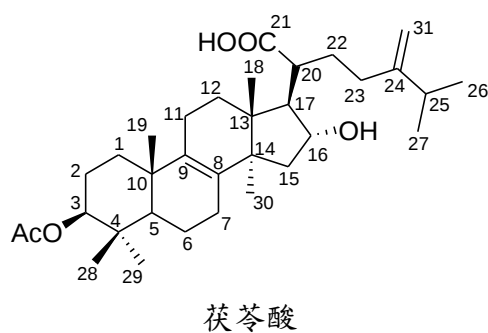
圖十三、茯苓酸的 FTIR 圖譜

(二十) 茯苓酸的 UV 圖譜



圖十四、茯苓酸的 UV 圖譜

(二十一) 茯苓酸的氫、碳化學位移



表七、茯苓酸的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	茯苓酸	
	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	1.16–1.20 (m), 1.66–1.70 (m)	34.7
2	1.55–1.60 (m)	23.8
3	4.36 (dd, 8.4, 7.8)	79.9
4		37.4
5	1.07 (dd, 12.6, 1.8)	50.0
6	1.41–1.49 (m), 1.60–1.64 (m)	17.6
7	1.72–2.02 (m)	25.8
8		134.1
9		133.5
10		36.4
11	1.55–1.60 (m), 1.86–1.90 (m)	30.1
12	1.33 (dd, 12.6, 9.0), 1.60–1.64 (m)	28.6
13		47.6
14		44.9
15	1.13 (d, 13.2)	42.4
16	3.86–3.90 (m)	75.1
17	1.87 (dd, 11.4, 6.0)	55.7
18	0.65 (s)	16.9
19	0.93 (s)	18.8
20	2.20–2.24 (m)	46.9
21		177.1
22	1.88–1.94 (m)	19.9
23	1.90–1.94 (m)	31.9
24		155.0
25	2.16–2.20 (m)	33.1
26	0.96 (d, 6.6)*	21.5*

27	0.97 (d, 6.6)*	21.6*
28	0.82 (s) [#]	27.7 [#]
29	0.83 (s) [#]	16.5 [#]
30	1.02 (s)	24.7
31	4.65 (s), 4.71 (s)	106.7
OAc	1.99 (s)	21.0
		170.1

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm. *,[#]interchangeable

赤茯苓

生藥名：RUBRA PORIA

英文名：Light Red Indian Bread

基 原：本品為多孔菌科 Polyporaceae 真菌茯苓 *Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf 之乾燥菌核。

一、方法

檢	【萃取方法 1】(自行開發)
一 品溶液	——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
)	【萃取方法 2】(自行開發) ✓
	——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 5 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。
	【萃取方法 3】(自行開發)
	——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
(對照	取茯苓酸(Pachymic acid)對照標準品，加甲醇製成每
二 標準品溶	1 mL 含 0.2 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。
) 液	
(薄層	HPTLC silica gel 60 F254，10 cm × 10 cm、20 cm
三 板	× 10 cm
)	
(展開	【展開劑 1】(自行開發) ✓
四 劑	——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)
)	【展開劑 2】(自行開發)
	——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：0.2)
(展開	10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
五 槽	
)	
(展開	展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8
六	cm。
)	
(顯色	以 10%硫酸乙醇試液(H ₂ SO ₄ /EtOH TS)噴霧後，
七 & 檢視	105 °C 加熱至條帶顯色清晰，於主波長 365 nm 之紫外
)	燈照射下檢視。

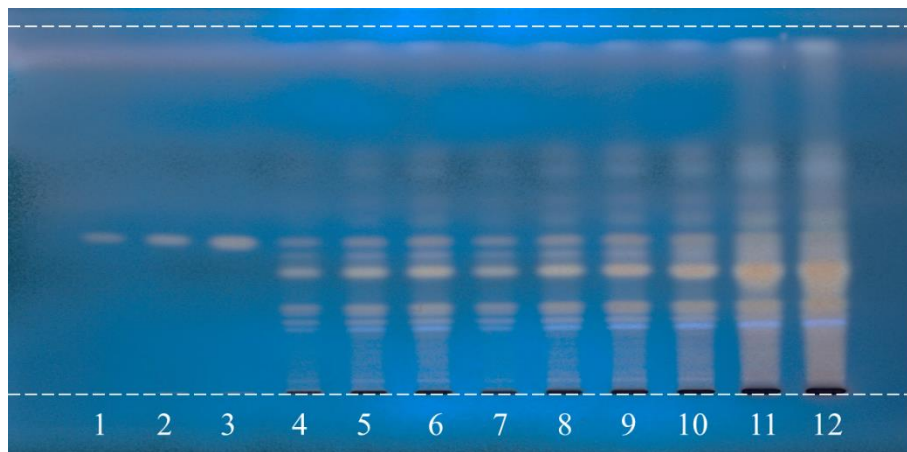
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：106/04/18

相對溼度(RH)：57%

溫度(RT)：27 °C

【展開劑 1】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)



編號	名稱	點 注量
1, 2, 3	茯苓酸(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 3【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 3【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 3【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品茯苓酸，而由於製備方法較簡便，且所使用的萃取溶劑量較低，故選擇【萃取方法 2】。

建議點注量：茯苓酸標準品溶液 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 2】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

實驗日期：106/04/19

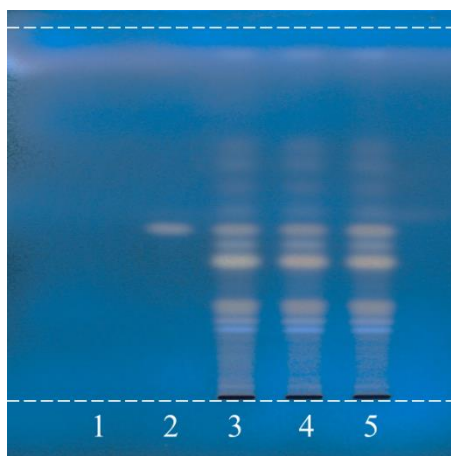
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)

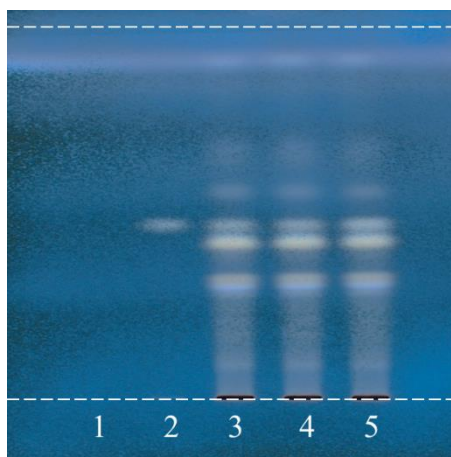
檢出(茯苓酸 R_f 值為 0.46)



【展開劑 2】 (自行開發)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (6：3：0.2)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)

檢出(茯苓酸 R_f 值為 0.46)



1：Blank

2：茯苓酸

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出茯苓酸，而由於分離效果較佳，且條帶顯示較多，故採用自行開發之【展開劑 1】。

四、觀察方式選擇

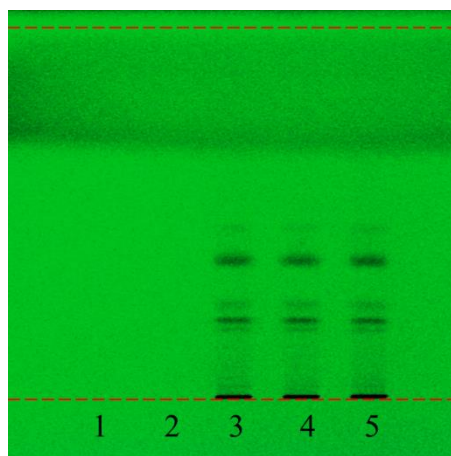
實驗日期：106/04/19

相對溼度(RH)：62%

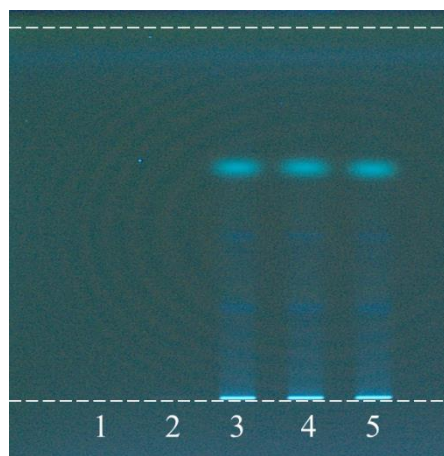
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 1】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

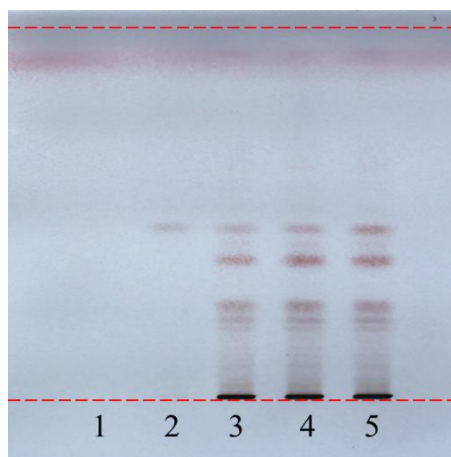
【萃取方法 2】(自行開發) —
HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



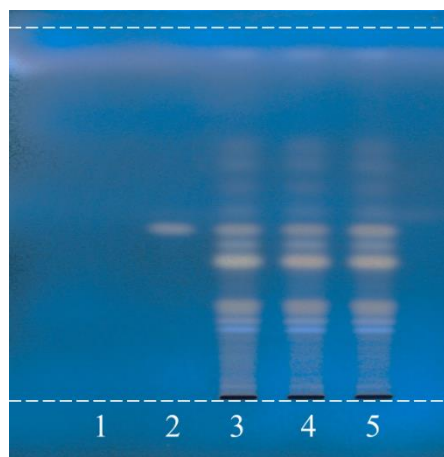
【萃取方法 2】(自行開發) —
HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發) —
HPTLC 顯色/可見光檢出



【萃取方法 2】(自行開發) —
HPTLC 顯色/紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

2：茯苓酸

3，4：檢品溶液 3

5：Spike

建議觀察方式：經 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)檢視較其他觀察方式有較多明顯之條帶及茯苓酸標準品斑點。

五、十批赤茯苓樣品檢測

實驗日期：106/04/19

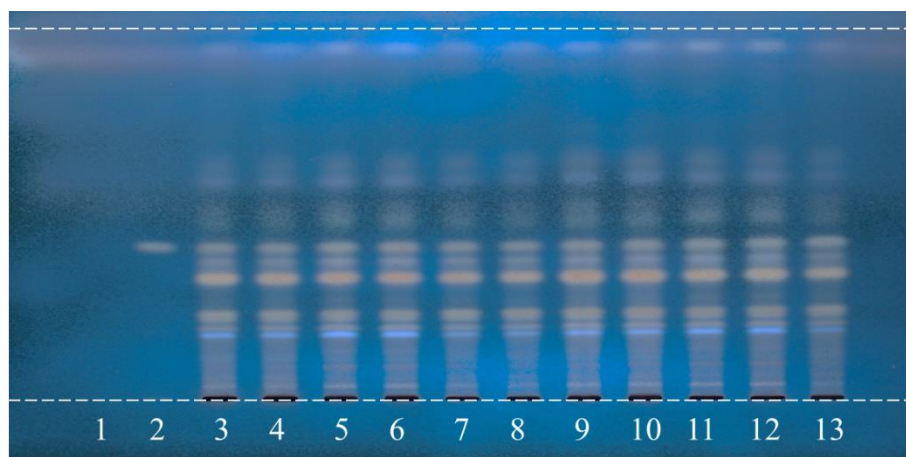
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：26 °C

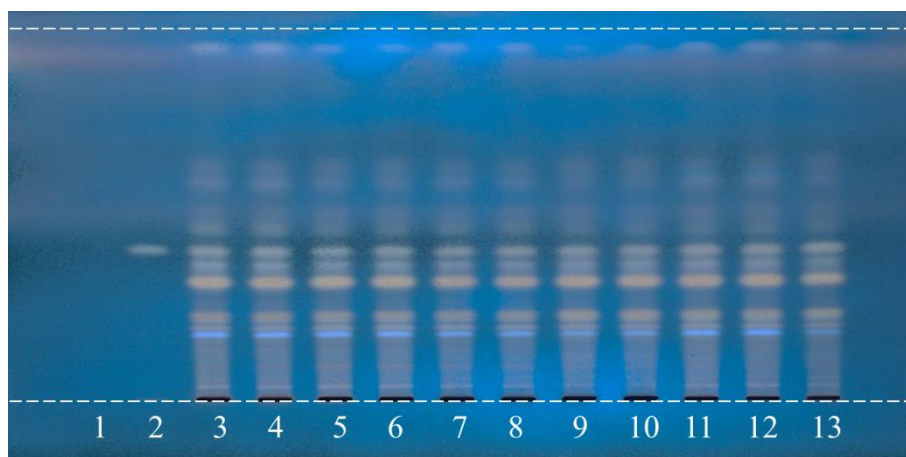
【展開劑 1】 (自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (20：5：0.5)

【萃取方法 2】 (自行開發)－HPTLC 10%硫酸乙醇顯色後紫外光(365 nm)

檢出



1	Blank
2	茯苓酸(0.2 mg/mL)
3 , 4	檢品溶液 1 (NF)
5 , 6	檢品溶液 2 (NH)
7 , 8	檢品溶液 3 (NI)
9 , 10	檢品溶液 4 (NR)
11 , 12	檢品溶液 5 (CA)
13	Spike (檢品溶液 3)



1	Blank
2	茯苓酸 (0.2 mg/mL)
3, 4	檢品溶液 6 (CG)
5, 6	檢品溶液 7 (SC)
7, 8	檢品溶液 8 (SJ)
9, 10	檢品溶液 9 (SR)
11, 12	檢品溶液 10 (ST)
13	Spike (檢品溶液 3)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 2】方式，並以自行開發之【展開劑 1】分離與檢出茯苓酸較佳，以 10%硫酸乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。