

白茅根

(IMPERATAE RHIZOMA)

白茅根 MI	3
一、藥材採購及鑑定	3
二、藥材性狀描述（圖1）	3
三、藥材組織顯微鑑別（圖2）	3
四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）	4
白茅根 HPLC （藥材）	8
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	11
白茅根 TLC （藥材）	21
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、十批白茅根藥材樣品檢測	25

白茅根（目錄續）

白茅根 HPLC （飲片）	27
一、材料	27
二、儀器及層析管柱	27
三、實驗藥品及試劑來源	27
四、方法	27
五、結果	30
白茅根 TLC （飲片）	34
一、方法	34
二、萃法選擇及濃度測試	35
三、溶媒系統選擇	36
四、觀察方式選擇	37
五、十批白茅根飲片樣品檢測	38

白茅根

(IMPERATAE RHIZOMA)

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白茅的乾燥根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：白茅根

生藥名：IMPERATAE RHIZOMA

英文名：Lalang Grass Rhizome

基原：本品為禾本科 Gramineae 植物白茅 *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch. 之乾燥根莖。

採收加工：春、秋兩季採挖，除去地上部、鬚根、膜質鞘葉及泥土，洗淨，乾燥即得。

藥材性狀：本品已切成長短不一的小段，圓柱形，直徑 0.2~0.5 cm。表面呈淺黃色，有光澤，具深淺不等的縱皺紋，環節明顯，略隆起，節間長短不等，1~3 cm，節上偶見殘留鱗葉。體輕，質韌，不易折斷，斷面皮部呈白色，纖維性且具裂隙呈放射狀排列，易與中柱剝離。中柱呈淡黃色，中心有一小孔。氣微、味微甘。

生長分佈：多年生草本植物，高 20~100 公分。生長力極強，喜溫暖、多日照、濕潤之地，但亦耐旱、耐陰，對環境適應性強，植株可耐寒至 -14℃，林地火燒後亦可迅速再生。對各式土壤類型適應良好，並以酸性土質為佳。目前已列為部分國家造成危害之外來入侵種，廣泛分佈在年雨量 75~500 公分的熱帶和亞熱帶地區，臺灣本島及離島亦有分布。花期 5~6 月，果期 6~7 月。藥材主產於中國。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 本品橫切面，表皮細胞為 1 層類方形小細胞，外被角質層，有的含矽質塊。
2. 下皮纖維 1~4 列，壁厚、木質化。
3. 皮層寬廣，由 10 餘列薄壁細胞所組成，有 10 餘個葉跡維管束散列。
4. 葉跡維管束為閉鎖性並立型，四周具維管束鞘纖維包圍。
5. 皮層有 10~20 餘個長圓形氣道均勻排列。
6. 內皮層細胞內壁增厚，黏有矽質塊。

7. 中柱鞘為 1~2 列厚壁細胞。
8. 中柱內維管束散列，四周具維管束鞘纖維包圍，外圍近中柱鞘的維管束其維管束鞘纖維發達，常相互連接成環。
9. 每個維管束內有 1~2 個較大型的導管。
10. 中央髓腔常呈空洞。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末黃白色。
2. 表皮細胞平行排列，每列多為 1 個長細胞與 2 個短細胞相間排列，偶有 1 個短細胞介於兩個長細胞間。
3. 下皮纖維常有橫隔，具斜紋孔。
4. 內皮層細胞類長方形，一邊壁薄且易破碎，另一邊壁增厚，有層紋及孔溝，黏有矽質塊。
5. 中柱鞘厚壁細胞類長方形，根莖莖節處中柱鞘細胞呈石細胞狀。
6. 纖維壁厚，長梭形，兩端銳尖，壁孔少。
7. 導管多為網紋導管，其次為螺紋導管，環紋導管較少見，直徑 8~17 μm 。

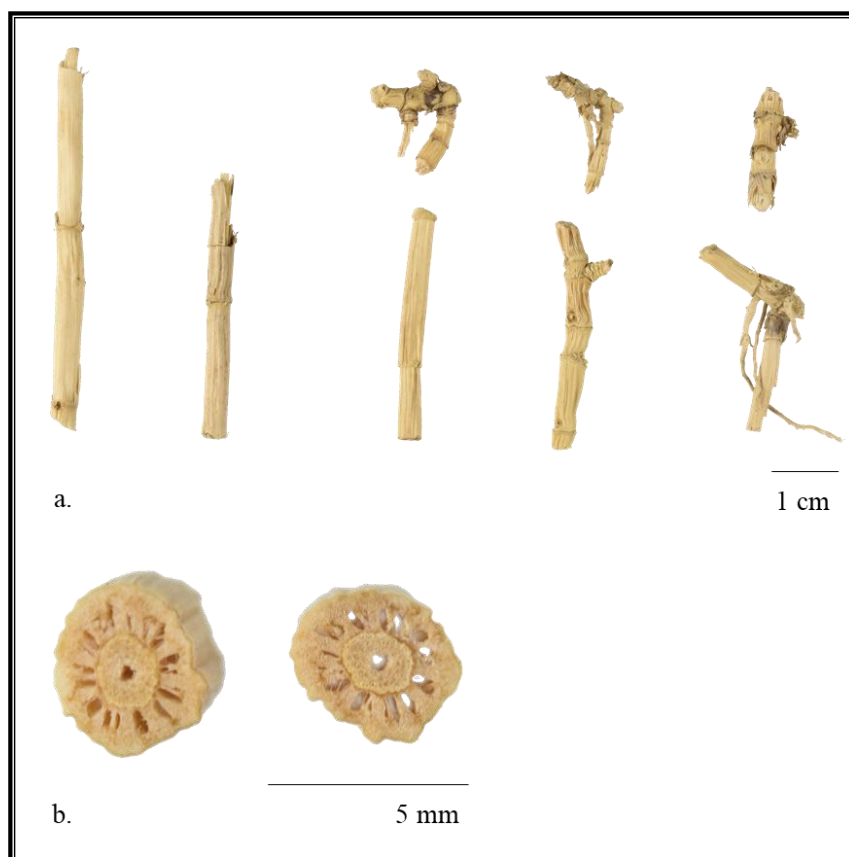


圖 1 白茅根藥材圖

a. 藥材圖 b. 根莖橫切面

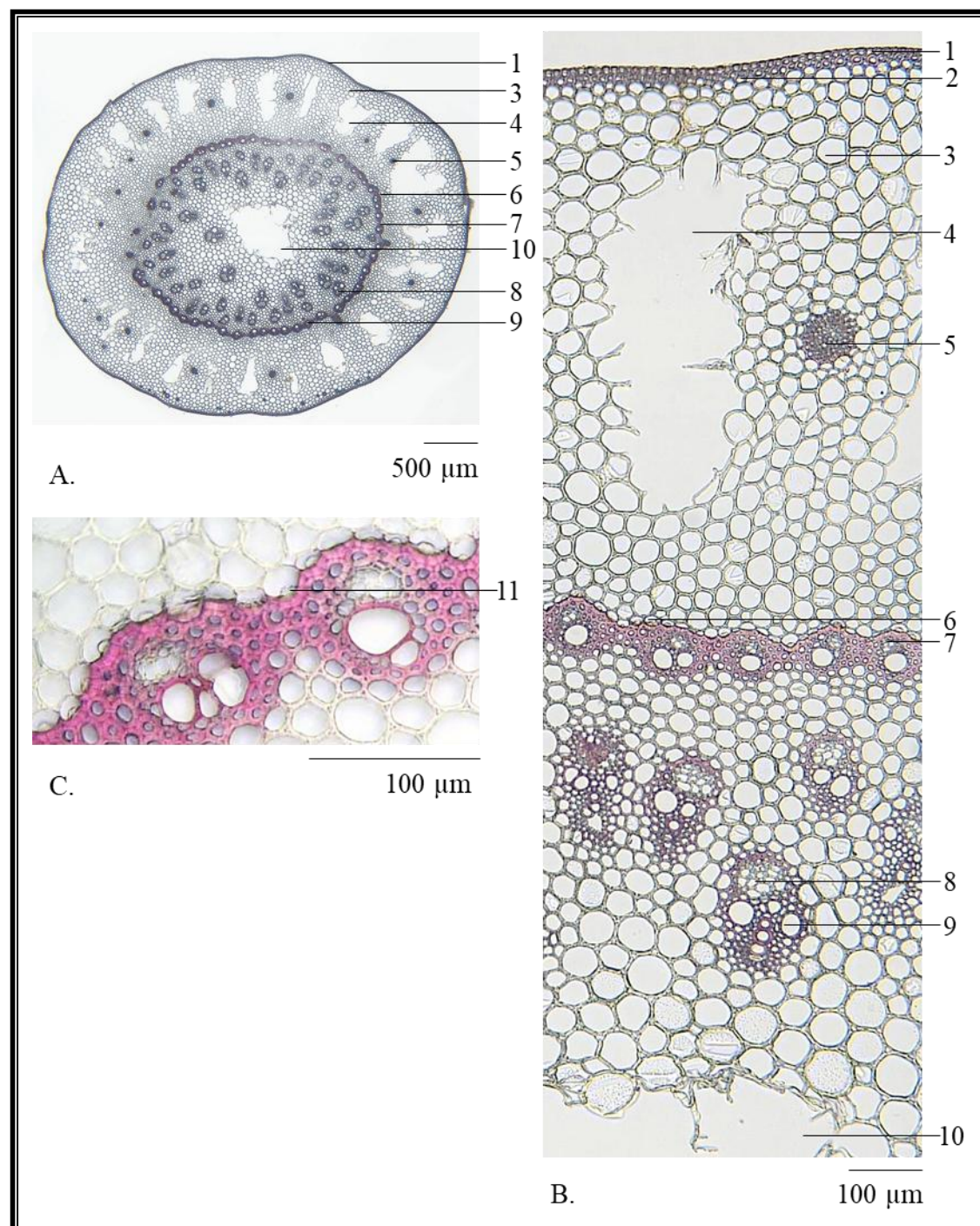


圖 2 白茅根根莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.內皮層及中柱鞘維管束

1.表皮 2.下皮纖維 3.皮層 4.氣道 5.葉跡維管束 6.內皮層 7.中柱鞘纖維
8.韌皮部 9.木質部 10.髓腔 11.內皮層細胞小砂質塊

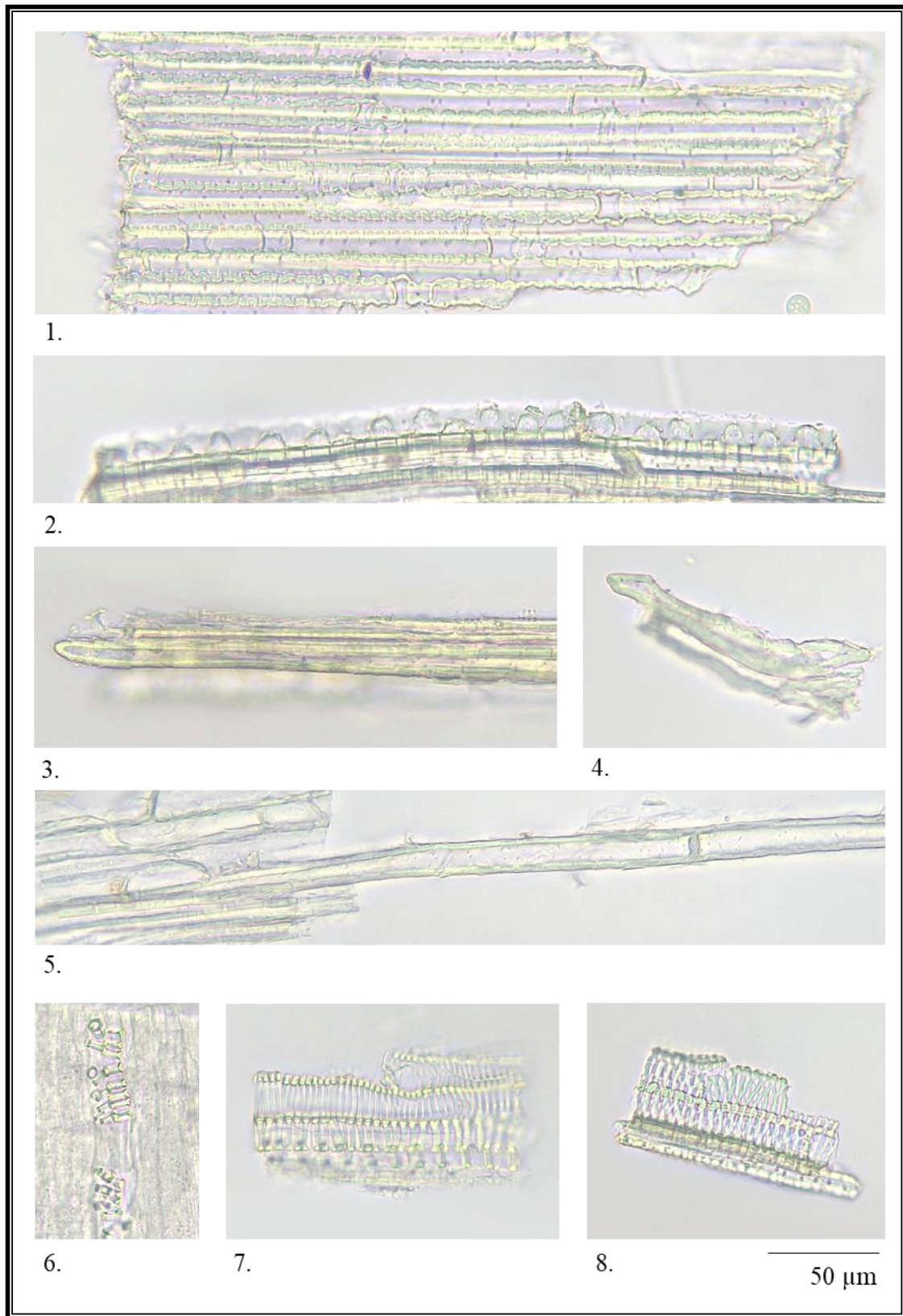


圖 3 白茅根粉末顯微特徵圖

- 1.表皮細胞 2.內皮細胞 3.纖維 4.石細胞狀中柱鞘纖維 5.下皮纖維
6.環紋導管 7.螺旋導管 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(2021)。臺灣中藥典第四版。臺北市：衛生福利部。104 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。臺北市：行政院衛生署中醫藥委員。261~262 頁。
3. 張永勳、何玉鈴(主編)(2015)。臺灣市售易混淆中藥鑑別圖鑑。臺北市：衛生福利部，62~64 頁。
4. 國家藥典委員會(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。111 頁。
5. 趙中振、陳虎彪(主編)(2016)。中藥顯微鑑定圖典。福建科學技術出版社。90~91 頁。
6. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。348~352 頁。
7. 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。170 頁。
8. 黃璐琦、姚霞(主編)(2020)。新編中國藥材學第五卷。中國醫藥科技出版社。108~110 頁。
9. 張繼(主編)(2022)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第二冊。廣東科技出版社。128 頁。
10. 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。191 頁。
11. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。176~177 頁。
12. 陳代賢、郭秋月(主編)(2017)。中藥真偽質量快速影像檢定(下冊)。北京人民衛生出版社。236~243 頁。
13. 蔡少青、王璇(主編)(2005)。常用中藥材品種整理和質量研究第六冊。北京大學醫學出版社。383~419 頁。

白茅根(IMPERATAE RHIZOMA)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店白茅根藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity II，包含 Quaternary pump、Autosampler、column compartment、PDA Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(HPLC grade)購置於永定科技有限公司；磷酸(85%)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

綠原酸(Chlorogenic acid)購置於普思生物科技公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、50%甲醇、25%甲醇、乙醇、50%乙醇、25%乙醇各 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加溶媒至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之綠原酸最大波峰面積為最佳白茅根藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取條件評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之綠原酸最大波峰面積

為最佳白茅根藥材萃取條件。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品綠原酸 1.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 含綠原酸 100 µg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至 10 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 0.2 g，置 50 mL 離心管中，加入 50% 乙醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 50% 乙醇至刻度，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綠原酸的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取綠原酸對照標準品儲備溶液適量(100 µg/mL)，以 50% 甲醇稀釋成含綠原酸分別為 25、10、5.0、1.0、0.5 µg/mL 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 µL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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

以綠原酸為 10 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以綠原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：取同一批市售白茅根藥材粉末，依白茅根藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份白茅根藥材檢品溶液，進樣測定，以綠原酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售白茅根藥材粉末，依白茅根藥材檢品溶液製備方法製備白茅根藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以綠原酸的含量為指標，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

取已知綠原酸含量的白茅根藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1.4 mL 的綠原酸溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$)，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 Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
20	10	90

(十二) 臺灣市售白茅根藥材含量測定

取 10 批市售白茅根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 公式計算樣品綠原酸的百分比含量。

(十三) 白茅根檢品之 UPLC 分析條件

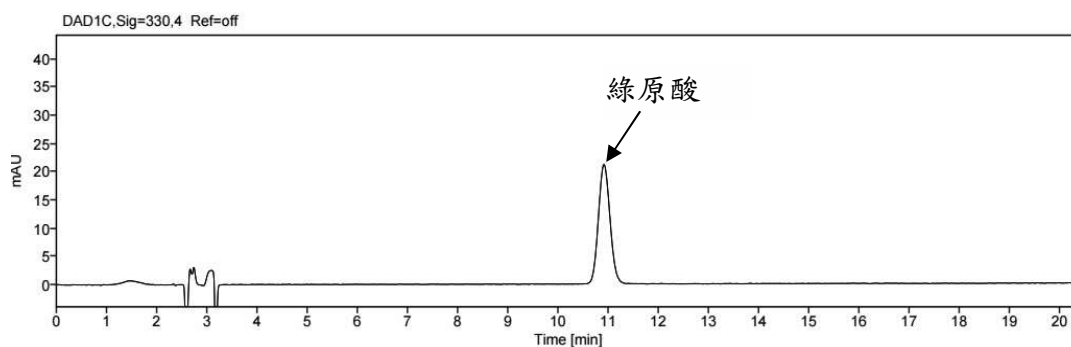
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
9	10	90

五、結果

(一) 對照標準品綠原酸之 HPLC 層析

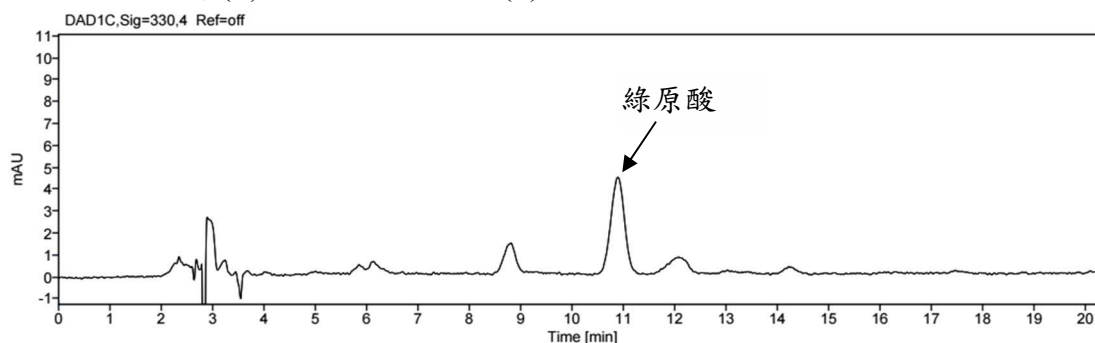
於滯留時間 10.9 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖一)。



圖一、綠原酸對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白茅根藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.9 分鐘處顯示白茅根藥材檢品中綠原酸波峰(圖二)。綠原酸分離率(R)為 4.5，拖尾因子(T)為 1.0，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白茅根藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50%乙醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得綠原酸的波峰面積最大，顯示 50%乙醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	綠原酸波峰面積	最佳萃取
甲醇	217.35	
50% 甲醇	339.37	
25% 甲醇	335.73	
乙醇	81.85	
50% 乙醇	354.32	√
25% 乙醇	346.43	

(四) 最佳萃取次數評估

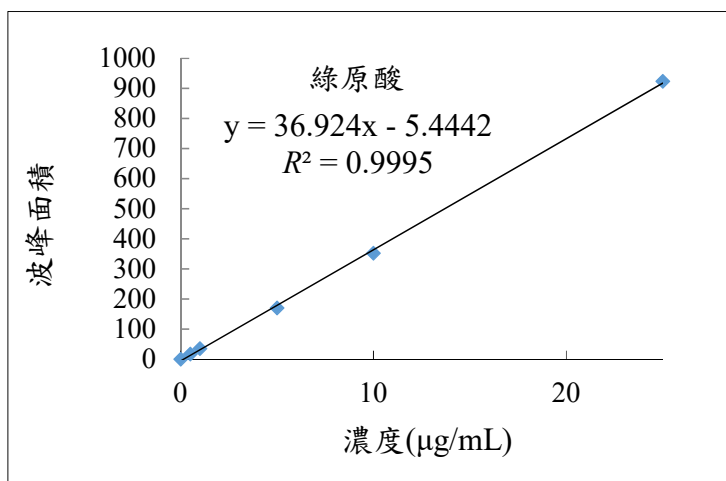
結果顯示萃取 2 次基本上已將綠原酸萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、白茅根藥材檢品萃取次數評估

50%乙醇	綠原酸波峰面積
第 1 次	286.13
第 2 次	38.07
第 3 次	6.01
第 4 次	N.D

(五) 對照標準品綠原酸檢量線

經不同濃度綠原酸(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 $y = 36.924x - 5.4442$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 0.5–25 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、綠原酸之檢量線圖

表三、綠原酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
綠原酸	0.5–25	$y = 36.924x - 5.4442$	0.9995

(六) 精密度試驗

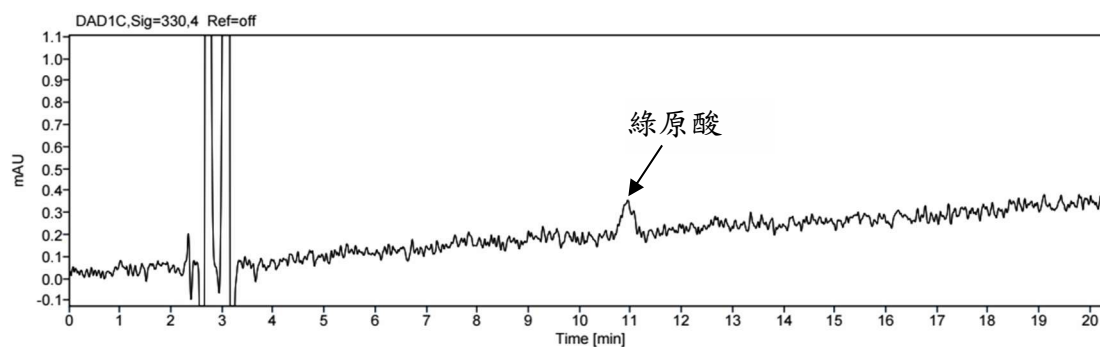
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，綠原酸精密度之相對標準差為 0.50%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

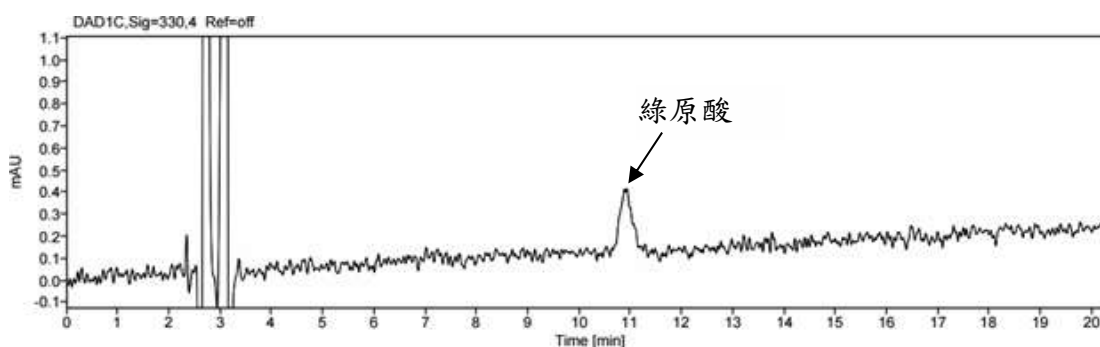
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，綠原酸重複性之相對標準差為 1.11%，在系統適用性要求內。綠原酸在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.75%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

綠原酸偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.15 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、綠原酸之偵測極限層析圖



圖五、綠原酸之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	綠原酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 $\mu\text{g/mL}$	0.50
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.11
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.75
偵測極限 (n=1)	0.05 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.15 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

綠原酸平均添加回收率為 97.8%，相對標準偏差為 2.26% (表五)。

表五、綠原酸添加回收率

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	0.2001	0.1366	0.14	0.2754	99.13	97.8	2.26
2	0.2001	0.1366	0.14	0.2767	100.06		
3	0.2007	0.1370	0.14	0.2705	95.31		
4	0.2001	0.1366	0.14	0.2704	95.54		
5	0.2001	0.1366	0.14	0.2752	98.96		

(十) 臺灣市售白茅根藥材含量測定

10 批白茅根藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，綠原酸的含量為 0.058–0.093%。建議白茅根藥材指標成分綠原酸的含量不得少於 0.04%。理論板數按綠原酸波峰計算應不低於 4000 (實際值為 7896)。

表六、臺灣市售白茅根藥材檢品之綠原酸的含量

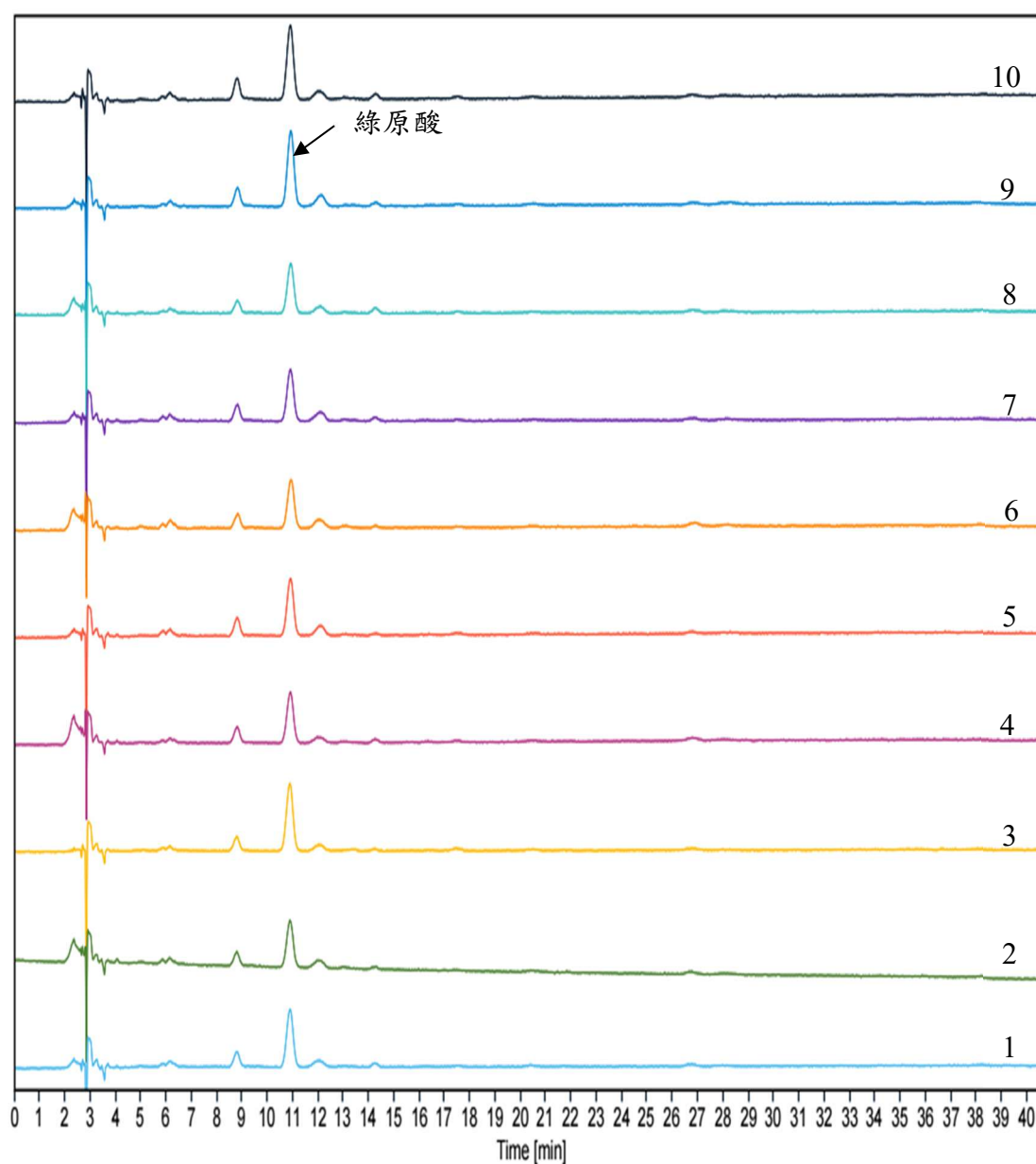
藥材編號 (No.)	綠原酸含量 (%)	藥材編號 (No.)	綠原酸含量 (%)
1 (NF)	0.058	6 (CH)	0.062
2 (NRA)	0.074	7 (SK3)	0.066
3 (NRB)	0.085	8 (SK4)	0.064
4 (NX)	0.064	9 (SUA)	0.093
5 (CB)	0.072	10 (SUD)	0.093
平均值±S.D.	0.073±0.013		

(十一) 白茅根藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售白茅根藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

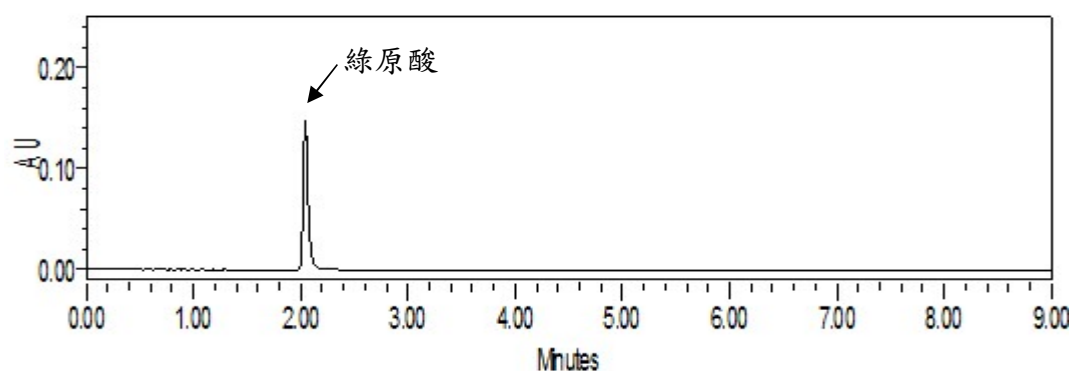
時間(min)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
40	10	90



圖六、10 批白茅根藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品綠原酸之 UPLC 層析

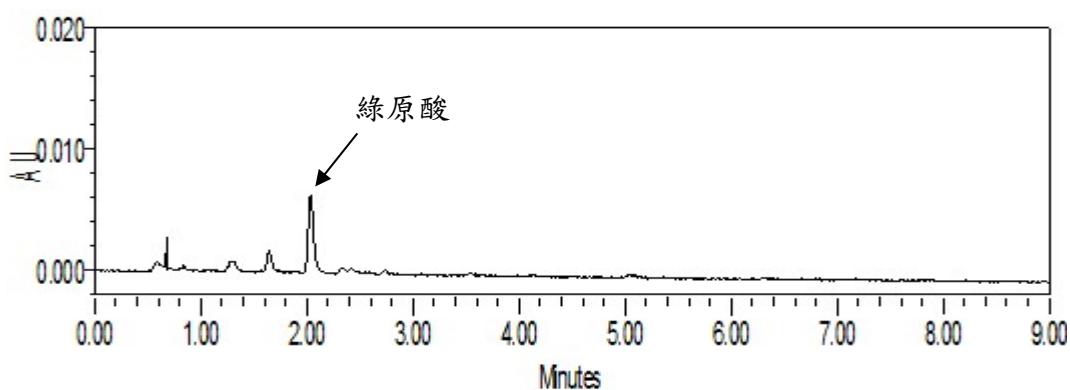
於滯留時間 2.04 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖七)。



圖七、綠原酸對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售白茅根藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.03 分鐘處顯示白茅根藥材檢品中綠原酸波峰(圖八)。

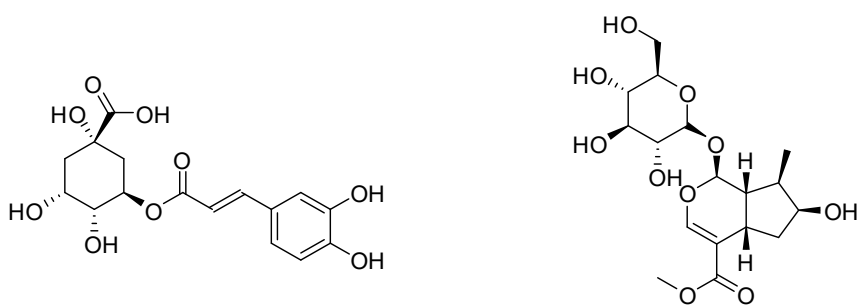


圖八、市售白茅根藥材檢品之 UPLC 層析圖

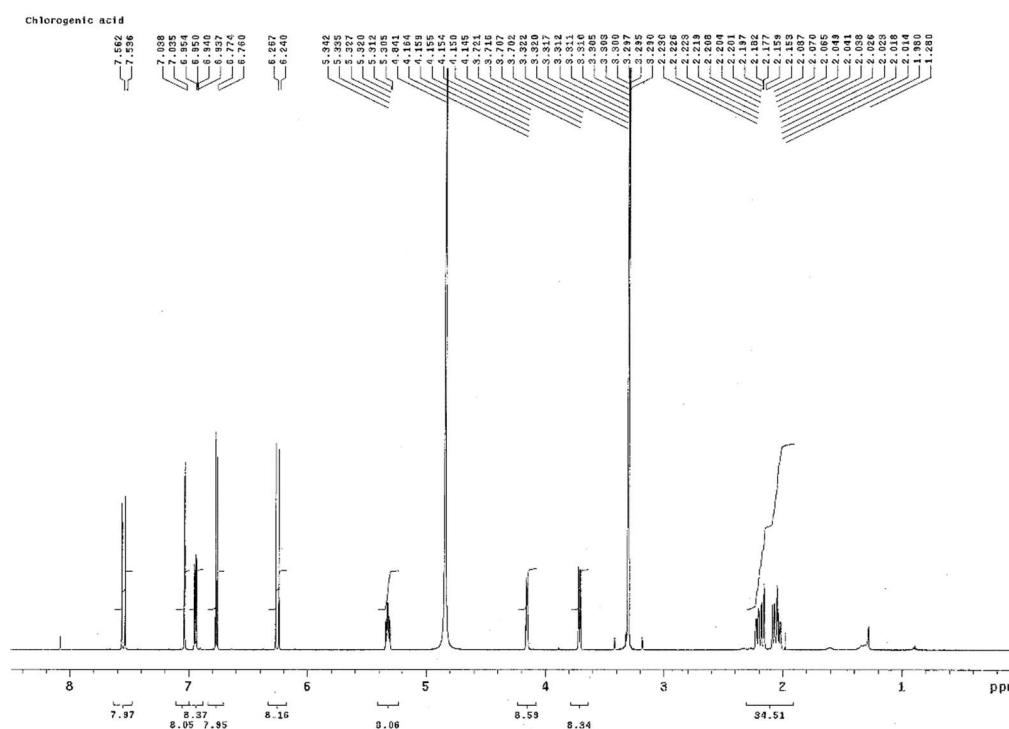
(十四) 綠原酸的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{18}O_9$ ；分子量：354.31；熔點：212 °C；白色粉末。

(十五) 綠原酸的結構

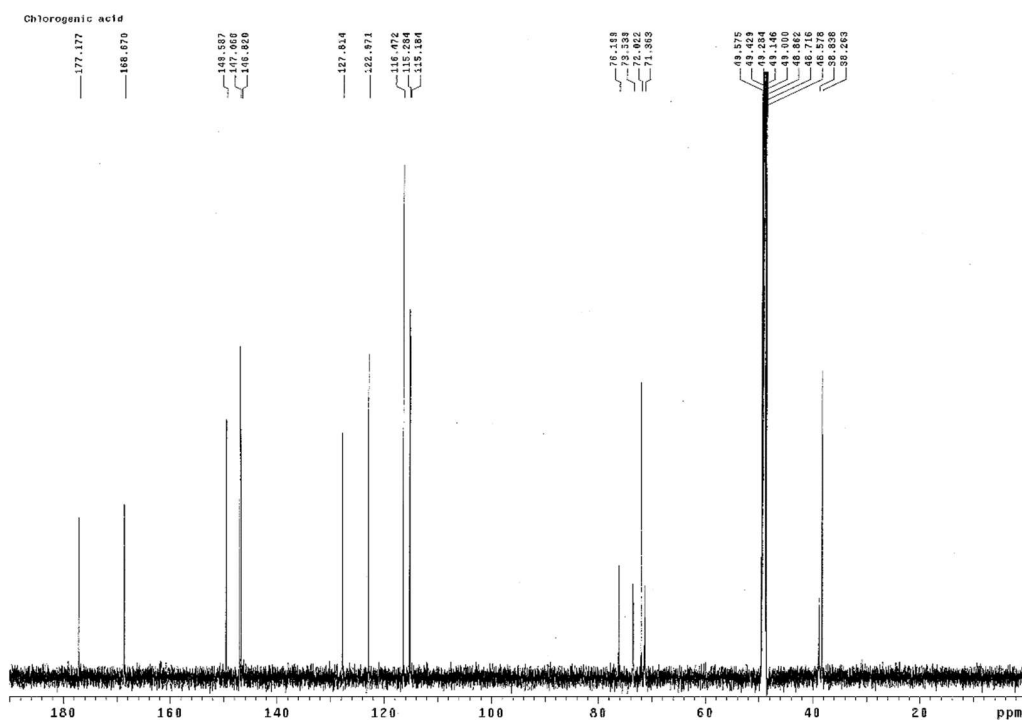


(十六) 綠原酸的 ^1H NMR 圖譜



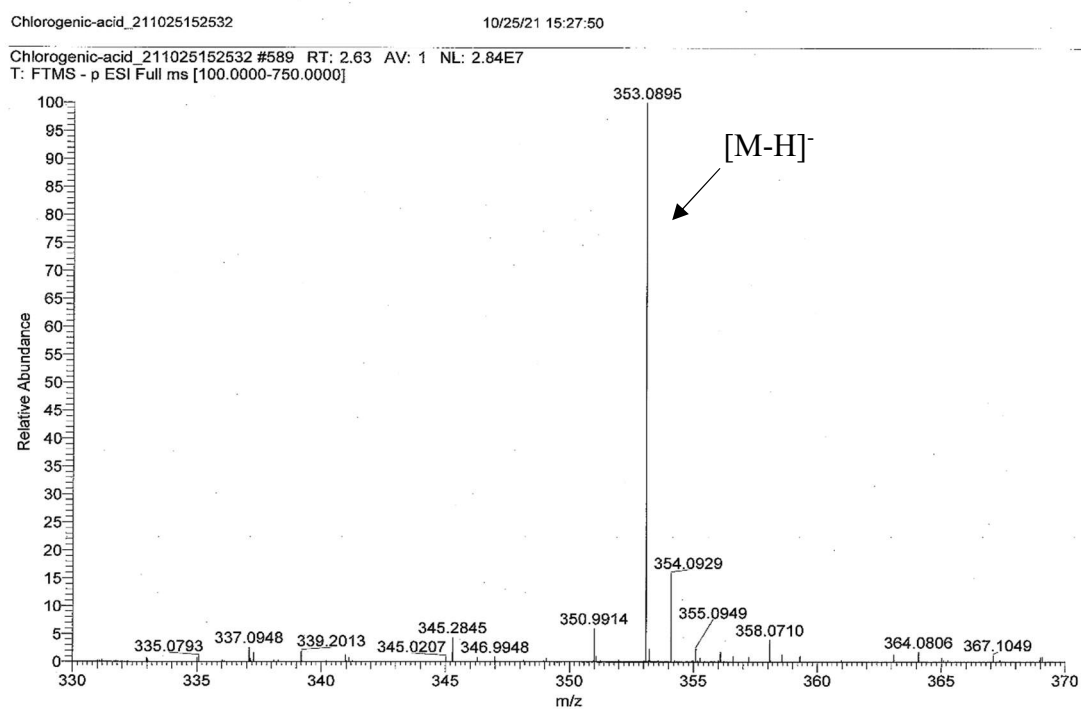
圖九、綠原酸的 ^1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 綠原酸的 ^{13}C NMR 圖譜



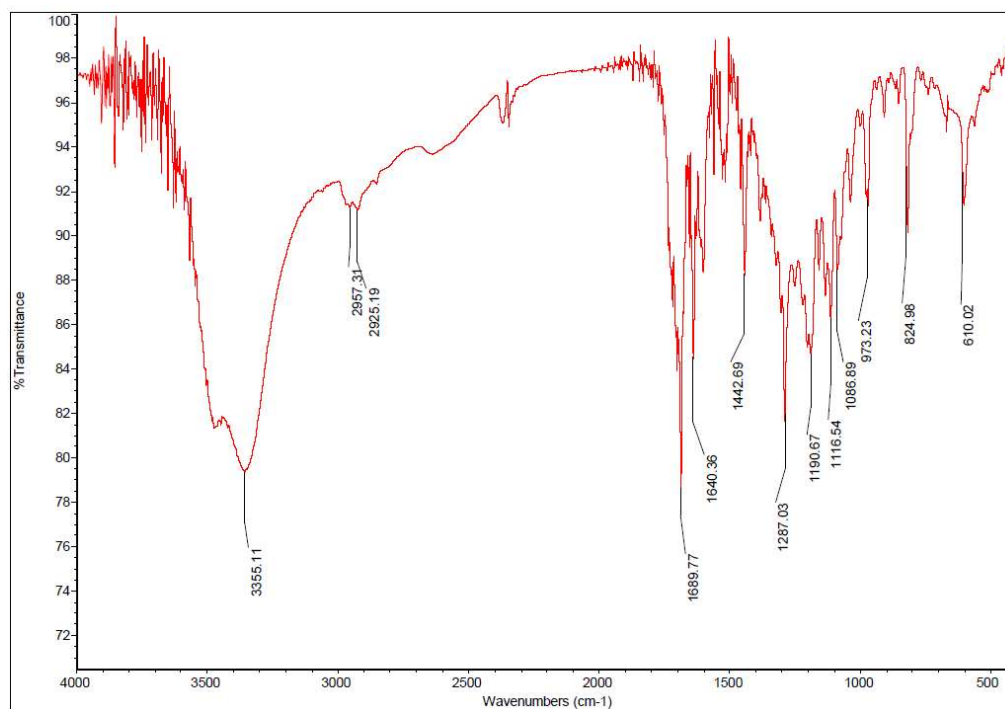
圖十、綠原酸的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 綠原酸的 ESI-MS 圖譜



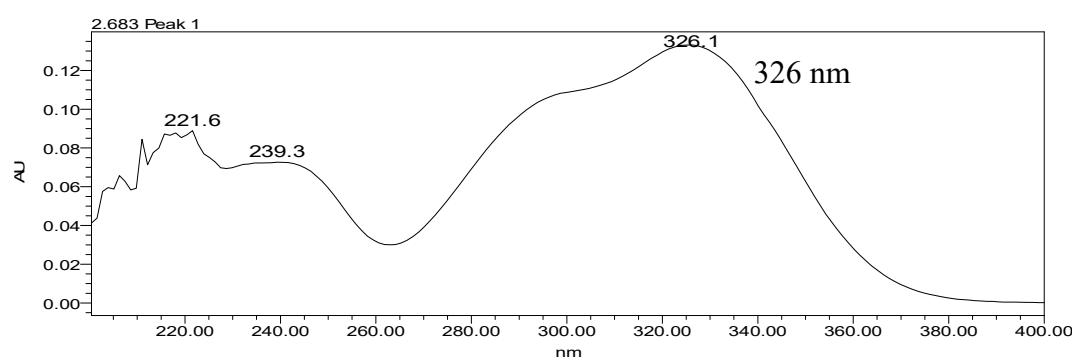
圖十一、綠原酸的 ESI-MS 圖譜

(十九) 綠原酸的 FTIR 圖譜



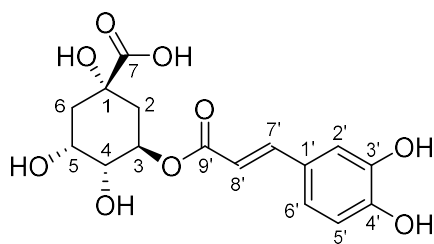
圖十二、綠原酸的 FTIR 圖譜

(二十) 綠原酸的 UV 圖譜



圖十三、綠原酸的 UV 圖譜

(二十一) 綠原酸的氫、碳化學位移



綠原酸

表七、綠原酸氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1	-	76.2
2	2.07 (dd, 13.2, 10.2) 2.21 (ddd, 13.2, 4.2, 2.4)	38.8
3	5.32 (td, 9.0, 4.2)	72.0
4	3.71 (dd, 8.4, 3.0)	73.5
5	4.15 (dt, 6.0, 3.0)	71.4
6	2.03 (ddd, 14.4, 5.4, 2.4) 2.17 (dd, 14.4, 3.0)	38.3
7	-	177.2
1'	-	127.8
2'	7.04, (d, 1.8)	115.2
3'	-	146.8
4'	-	149.6
5'	6.77 (d, 8.4)	116.4
6'	6.95 (dd, 8.4, 1.8)	123.0
7'	7.55 (d, 15.6)	147.1
8'	6.25 (d, 15.6)	115.3
9'	-	168.7

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

白茅根

生藥名：IMPERATAE RHIZOMA

英文名：Lalang Grass Rhizome

基 原：本品為禾本科 Gramineae 植物白茅 *Imperata cylindrica* (L.) P.Beauv. var. *major* (Nees) C.E.Hubb.之乾燥根莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

——取本品粉末 2.5 g，加乙醇 15 mL，超音波振盪 1 小時，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醚 20 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醚 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發 1) ✓

——取本品粉末 0.5 g，加 50% 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 4】(自行開發 2)

——取本品粉末 0.5 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。

(二) 對照標準品 取綠原酸(Chlorogenic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——二氯甲烷

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

(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，於紫外光(365 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

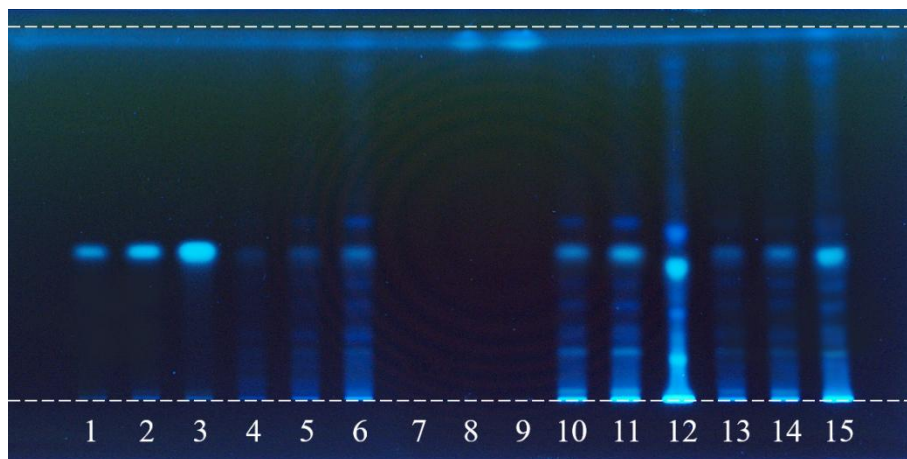
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	綠原酸(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 5 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 5 【萃取方法 4】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：除《中華人民共和國藥典》外，另三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出綠原酸，因濃度適中，且萃取方法簡單，故採用自行開發之【萃取方法 3】。

建議點注量：綠原酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

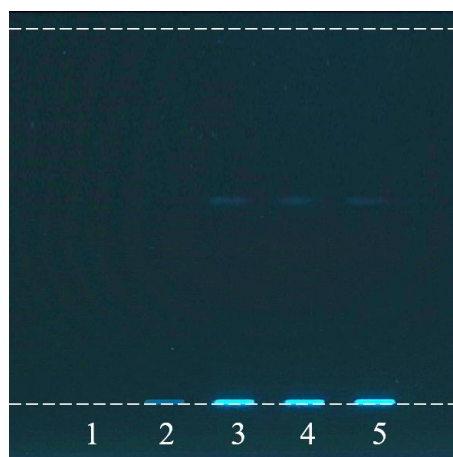
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

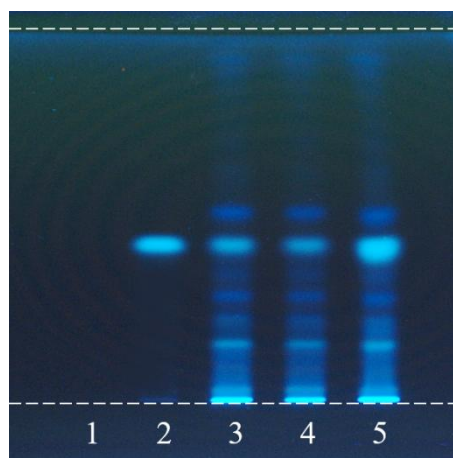
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》——二氯甲烷

【萃取方法 3】(自行開發 1)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0)



【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1) ✓

【萃取方法 3】(自行開發 1)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0.43)



1：Blank

3，4：檢品溶液 5

2：綠原酸

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以自行開發之【展開劑 2】展開，顯示綠原酸的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：113/07/18

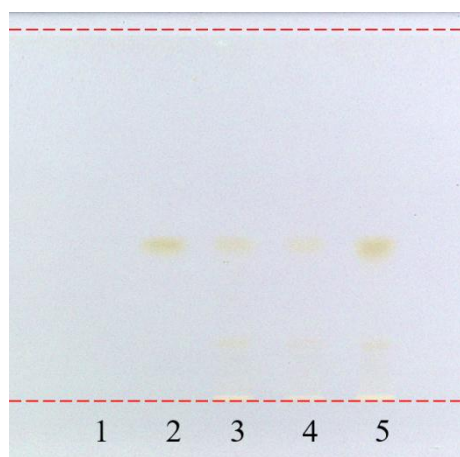
相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

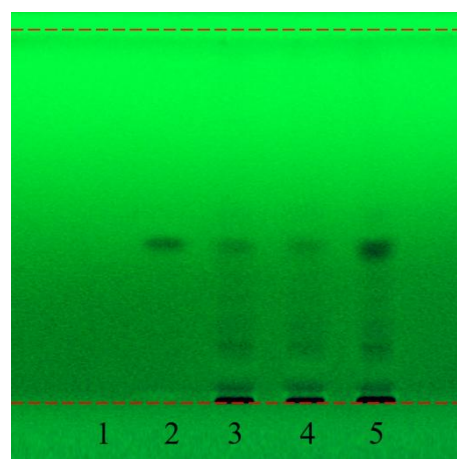
【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

可見光檢出



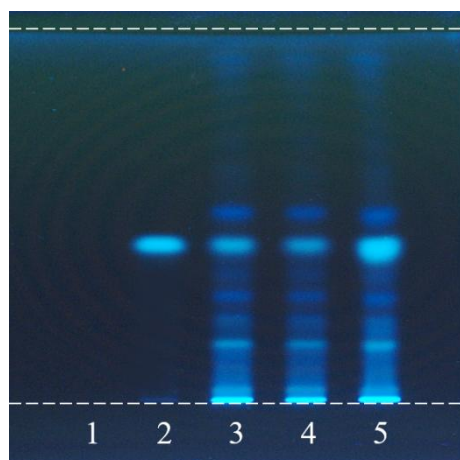
【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 5

2：綠原酸

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)檢視顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批白茅根藥材樣品檢測

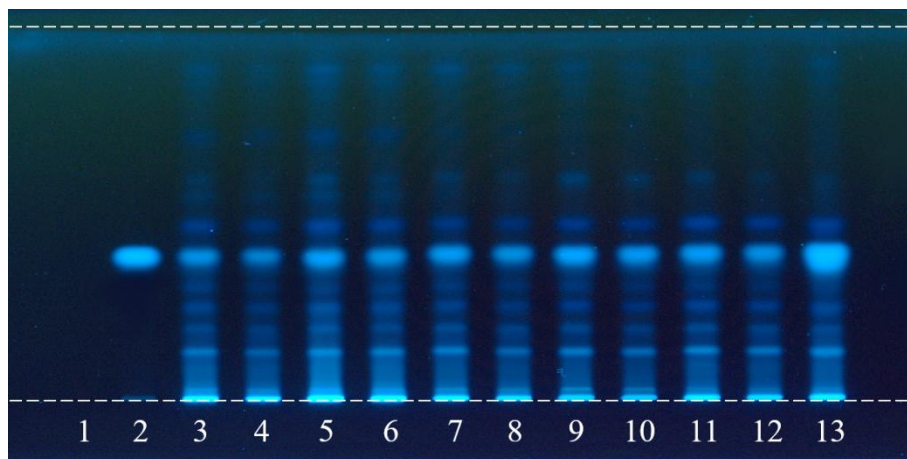
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

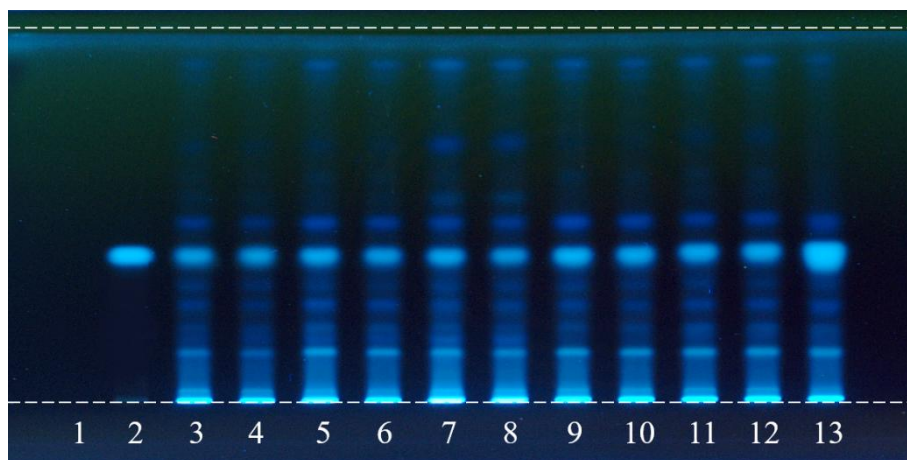
【萃取方法 3】(自行開發 1)—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NRB)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NX)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)	11, 12	檢品溶液 5 (CB)
5, 6	檢品溶液 2 (NRA)	13	Spike (檢品溶液 5)

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發 1)—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SK4)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUA)
3, 4	檢品溶液 6 (CH)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (SK3)	13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以【萃取方法 3】方式及【展開劑 2】分離與檢出綠原酸較佳，以紫外光(365 nm)檢視較佳。

白茅根飲片(TUCKAHOE PEEL)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店白茅根飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1260 Infinity II，包含 Quaternary pump、Autosampler、column compartment、PDA Detector；層析管柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus 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、Sample Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

乙腈(HPLC grade)購置於永定科技有限公司；磷酸(85%)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

綠原酸(Chlorogenic acid)購置於普思生物科技公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

白茅根飲片最佳萃取溶媒同白茅根藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

白茅根飲片最佳萃取次數同白茅根藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品綠原酸 1.0 mg，加 10 mL 的 50% 甲醇製成每 1 mL 綠原酸 100 μg 的對照標準品儲備溶液，並以 50% 甲醇稀釋至綠原酸 10 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 0.2 g，置 50 mL 離心管中，準確

加入 50%乙醇 20 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 50%乙醇至刻度，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白茅根的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取綠原酸對照標準品儲備溶液適量(100 $\mu\text{g/mL}$)，以 50%甲醇稀釋成含綠原酸分別為 25、10、5.0、1.0、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(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

以綠原酸為 10 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以綠原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：取同一批市售白茅根飲片粉末，依白茅根飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份白茅根飲片檢品溶液，進樣測定，以綠原酸的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售白茅根飲片粉末，依白茅根飲片檢品溶液製備方法製備白茅根飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以綠原酸的含量為指標，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

取已知綠原酸含量的白茅根飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 1.1 mL 的綠原酸溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)，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 Eclipse Plus C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 330 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)	乙腈(%)	0.1%磷酸(v/v, %)
0	10	90
20	10	90

(十二) 臺灣市售白茅根飲片含量測定

取 10 批市售白茅根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 公式計算樣品綠原酸的百分比含量。

(十三) 白茅根檢品之 UPLC 分析條件

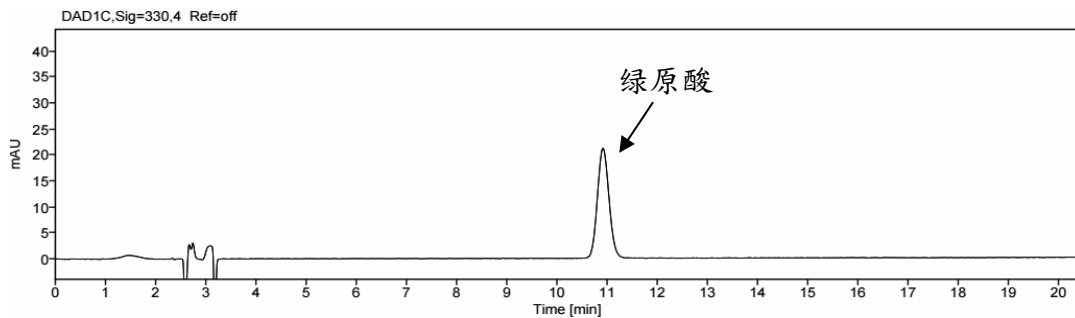
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 330 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1% 磷酸(v/v, %)
0	10	90
9	10	90

五、結果

(一) 對照標準品綠原酸之 HPLC 層析

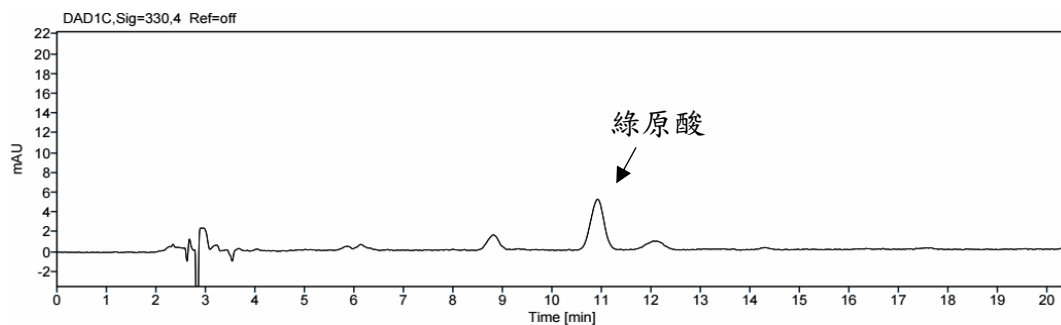
於滯留時間 10.9 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖一)。



圖一、綠原酸對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白茅根飲片檢品之 HPLC 層析

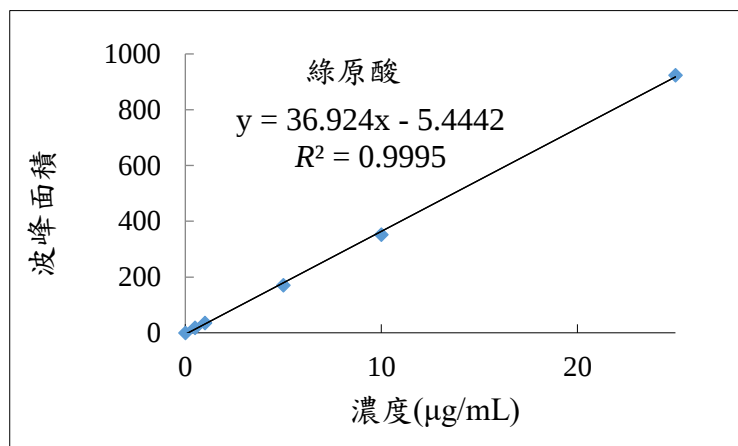
於滯留時間 10.9 分鐘處顯示白茅根飲片檢品中綠原酸波峰(圖二)。綠原酸分離率(R) 4.5，拖尾因子(T)為 1.0，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白茅根飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 對照標準品綠原酸檢量線

經不同濃度綠原酸(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 $y = 36.924x - 5.4442$ ， $R^2 = 0.9995$ ，顯示濃度在 0.50–25 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、綠原酸之檢量線圖

表一、綠原酸之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
綠原酸	0.5–25	$y = 36.924x - 5.4442$	0.9995

(六) 精密度試驗

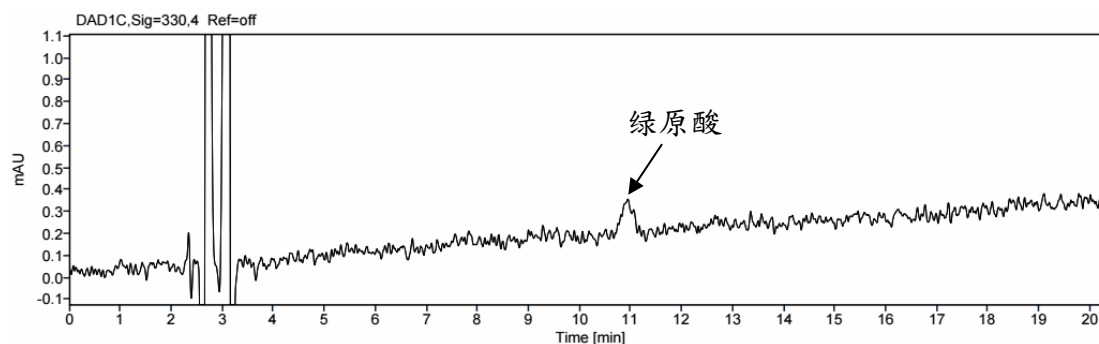
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，綠原酸精密度之相對標準差為 0.50%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

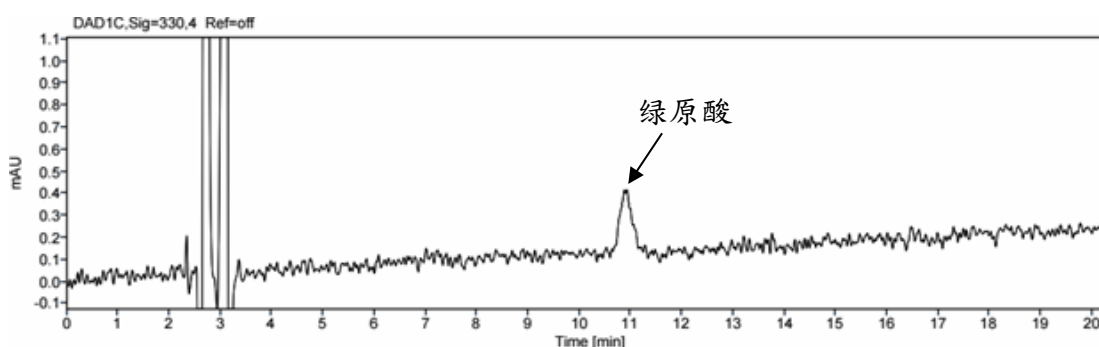
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，綠原酸重複性之相對標準差為 2.78%，在系統適用性要求內。綠原酸在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 1.48%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

綠原酸偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.15 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、綠原酸之偵測極限層析圖



圖五、綠原酸之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	綠原酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	10 µg/mL	0.50
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	2.78
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	1.48
偵測極限 (n=1)	0.05 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.15 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

綠原酸平均添加回收率為 90.2%，相對標準偏差為 3.88% (表三)。

表三、綠原酸添加回收率

編號	飲片稱重 (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	0.2002	0.0814	0.11	0.1770	86.85	90.2	3.88
2	0.2006	0.0816	0.11	0.1868	95.62		
3	0.2005	0.0816	0.11	0.1808	90.21		
4	0.2003	0.0815	0.11	0.1776	87.36		
5	0.2005	0.0816	0.11	0.1813	90.70		

(十) 臺灣市售白茅根飲片含量測定

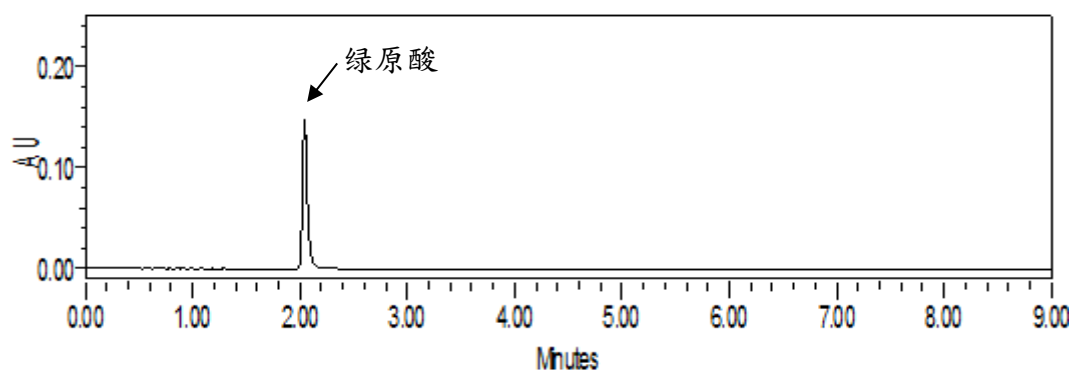
10 批白茅根飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，綠原酸的含量為 0.037–0.059%。建議白茅根飲片指標成分綠原酸的總含量不得少於 0.03%。理論板數按綠原酸波峰計算應不低於 4000 (實際值為 7745)。

表四、臺灣市售白茅根飲片檢品之綠原酸的含量

飲片編號 (No.)	綠原酸含量 (%)	藥材編號 (No.)	綠原酸含量 (%)
1 (NF)	0.053	6 (SK3)	0.043
2 (NX)	0.052	7 (SUA)	0.055
3 (CA2)	0.059	8 (SUB)	0.038
4 (CE)	0.053	9 (SUC)	0.037
5 (CE2)	0.055	10 (SUD)	0.042
平均值±S.D.	0.049±0.008		

(十一) 對照標準品綠原酸之 UPLC 層析

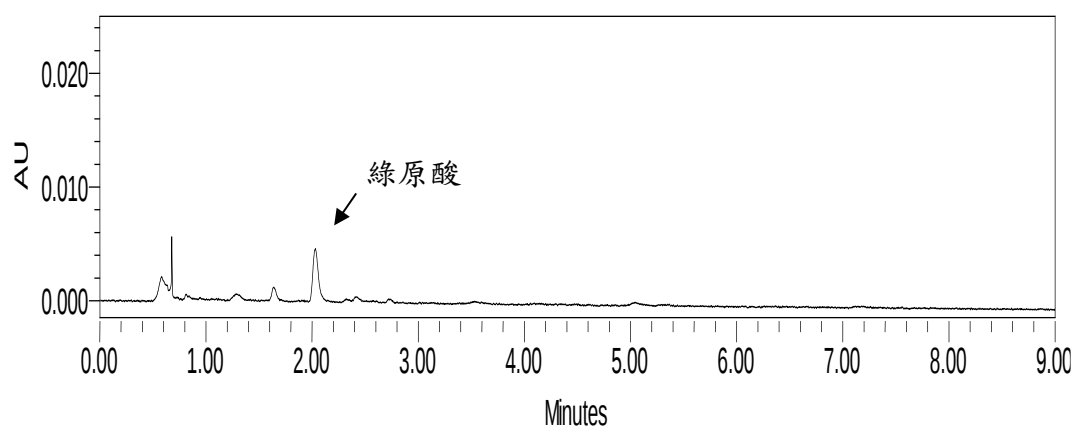
於滯留時間 2.04 分鐘處顯示綠原酸對照標準品波峰(圖六)。



圖六、綠原酸對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十二) 市售白茅根飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.03 分鐘處分別顯示白茅根飲片檢品中綠原酸波峰(圖七)。



圖七、市售白茅根飲片檢品之 UPLC 層析圖

白茅根飲片

生藥名：IMPERATAE RHIZOMA

英文名：Lalang Grass Rhizome

基 原：本品為禾本科 Gramineae 植物白茅 *Imperata cylindrica* (L.) P.Beauv. var. *major* (Nees) C.E.Hubb.之乾燥根莖。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

——取本品粉末 2.5 g，加乙醇 15 mL，超音波振盪 1 小時，過濾，取濾液，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《中華人民共和國藥典 2020》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醚 20 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醚 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發 1) ✓

——取本品粉末 0.5 g，加 50% 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 4】(自行開發 2)

——取本品粉末 0.5 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。

(二) 對照標準品 取綠原酸(Chlorogenic acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——二氯甲烷

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

(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，於紫外光(365 nm)下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

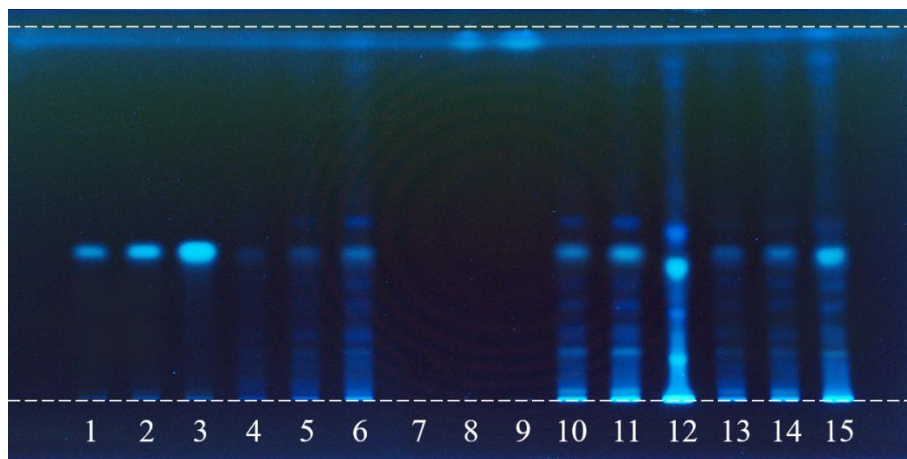
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	綠原酸(0.2 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 5 【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 5 【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 5 【萃取方法 3】	1, 2, 5 μ L
13, 14, 15	檢品溶液 5 【萃取方法 4】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：除《中華人民共和國藥典》外，另三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出綠原酸，因濃度適中，且萃取方法簡單，故採用自行開發之【萃取方法 3】。

建議點注量：綠原酸 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 3】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

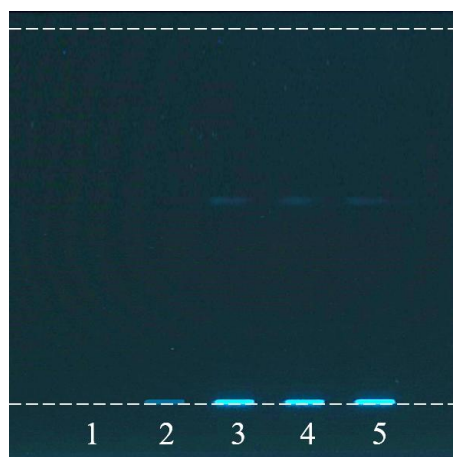
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

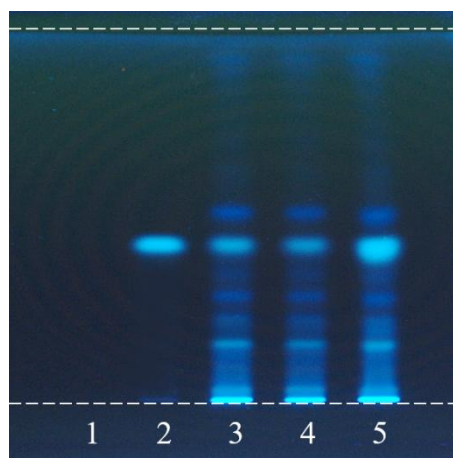
【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》——二氯甲烷

【萃取方法 3】(自行開發 1)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0)



【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1) ✓

【萃取方法 3】(自行開發 1)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出(綠原酸 R_f 值為 0.43)



1：Blank

3，4：檢品溶液 5

2：綠原酸

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，以自行開發之【展開劑 2】展開，顯示綠原酸的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：113/07/18

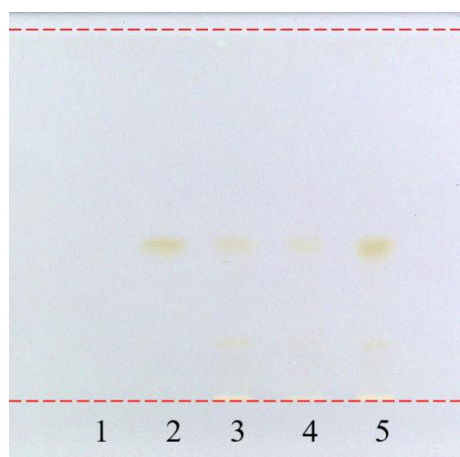
相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

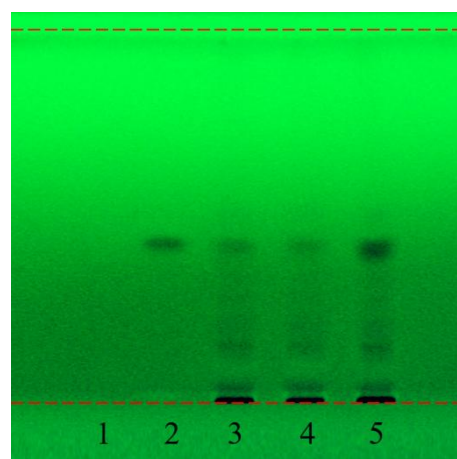
【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

可見光檢出



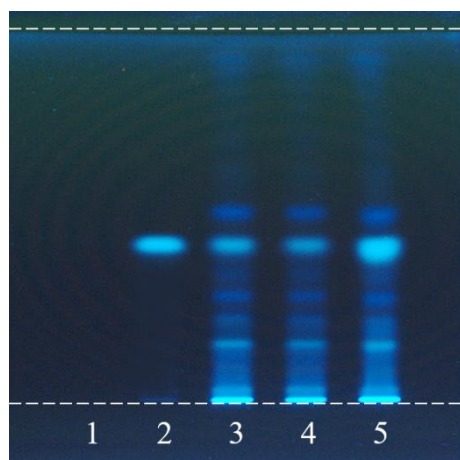
【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

紫外光(254 nm)檢出



【萃取方法 3】(自行開發 1)－HPTLC

紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 5

2：綠原酸

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(365 nm)檢視顯示有較明顯分離之條帶。

五、十批白茅根飲片樣品檢測

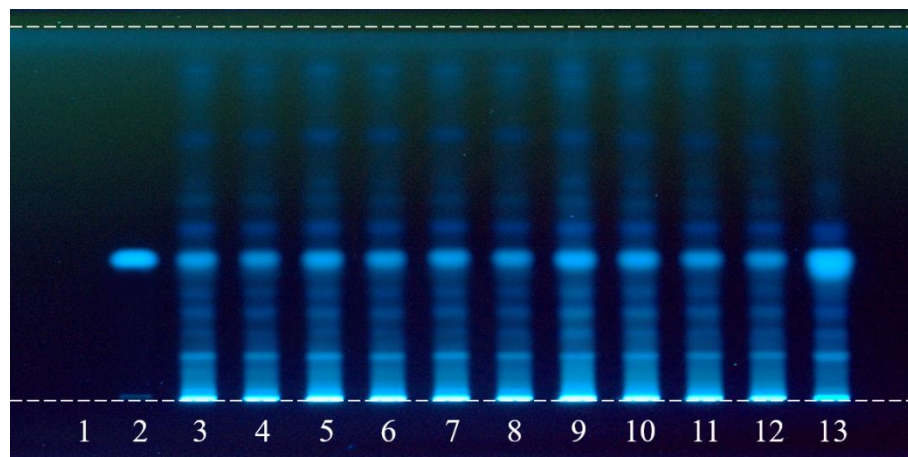
實驗日期：113/07/18

相對溼度(RH)：58%

溫度(RT)：24.6 °C

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

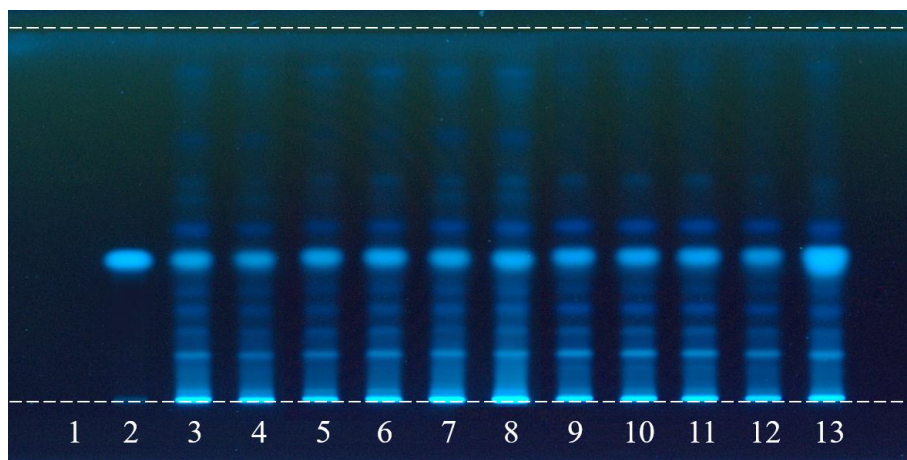
【萃取方法 3】(自行開發 1)—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7，8	檢品溶液 3 (NL)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9，10	檢品溶液 4 (NWB)
3，4	檢品溶液 1 (NC)	11，12	檢品溶液 5 (CA)
5，6	檢品溶液 2 (NJ)	13	Spike (檢品溶液 5)

【展開劑 2】(自行開發)——乙酸乙酯：甲酸：水 (10：1：1)

【萃取方法 3】(自行開發 1)—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SK2)
2	綠原酸(0.2 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUB)
3, 4	檢品溶液 6 (CE)	11, 12	檢品溶液 10 (SUC)
5, 6	檢品溶液 7 (SK1)	13	Spike (檢品溶液 5)

結論與建議：以【萃取方法 3】方式及【展開劑 2】分離與檢出綠原酸較佳，以紫外光(365 nm)檢視較佳。