

兒茶

(CATECHU)

兒茶 MI

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

兒茶 HPLC

一、材料.....	5
二、儀器及層析管柱.....	5
三、實驗藥品及試劑來源.....	5
四、方法.....	5
五、結果.....	9

兒茶 TLC

一、方法.....	26
二、萃法選擇及濃度測試.....	27
三、溶媒系統選擇.....	28
四、觀察方式選擇.....	30
五、十批兒茶樣品檢測.....	31

兒茶

(CATECHU)

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兒茶鉤藤的帶葉嫩枝水煎煮濃縮之乾燥浸膏。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：兒茶

生藥名：CATECHU

英文名：Catechu

基原：本品為茜草科 Rubiaceae 植物兒茶鉤藤 *Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb. 帶葉嫩枝水煎煮濃縮之乾燥浸膏。

採收加工：帶葉小枝加水煎煮，過濾，濃縮，冷卻後切成方塊狀，乾燥。

藥材性狀：本品多為方形塊狀，表面棕色或暗棕色，平坦，較無光澤，質脆易碎，斷面不規則，內部淺棕紅色，氣微，味澀，先苦後甘。

生長分佈：常綠藤本，為熱帶植物，生長於低海拔叢林，喜溫暖多雨排水良好環境。主產於緬甸、馬來西亞、印尼等地。

三、藥材粉末顯微鑑別 (圖 2)

1. 粉末棕色。
2. 可見針晶束。偏光下呈亮白色至多彩色。
3. 可見浸膏粉末之黃色物質團塊。



圖 1 兒茶藥材圖

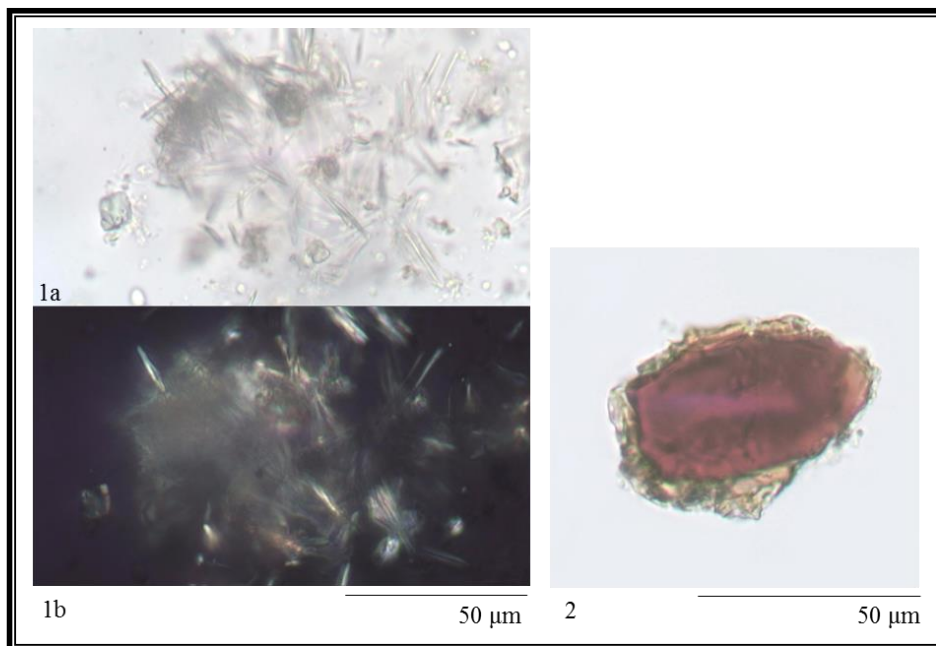


圖 2 兒茶粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.散落針晶束 2.黃色團塊

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第三版編輯工作小組編纂(2018)。臺灣中藥典第三版。台北市：衛生福利部。177~178 頁。
2. 張賢哲、蔡貴花編著(2003)。中藥炮製學第二次修訂版。台中：中國醫藥大學。565 頁。
3. 羅集鵬主編(1996)。生藥學。北京：中國醫藥科技出版社。327 頁。
4. 肖培根等編輯(2001)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。910 頁。
5. 國家藥典委員會編輯(2015)。中華人民共和國藥典 2015 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。10 頁。
6. 陳士林、林余霖編著(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。10 頁。

兒茶(CATECHU)

一、材料

購自於臺灣各地中藥店兒茶藥材共 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)、Quat Pump (G1311A)、DAD (G1315B)、Autosampler (G1329A)、Column Oven H-650 (Chrom Tech, TNC.)；層析管柱 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 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 Thermo syncromis C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Merck；醋酸(99.9%)購自於 J.T. Beaker。

(二) 標準品

標準品兒茶素(Catechin)購自於友和貿易股份有限公司；標準品表兒茶素(Epicatechin)購自於昇漢科技有限公司，純度皆 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取條件開發

取本品粉末 8 份，每份準確稱取 20 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、25%甲醇、95%乙醇、75%乙醇、50%乙醇、25%乙醇各 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 20 分鐘，離心 5 分鐘(約 3000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液轉移至 50 mL 之定量瓶中，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標準品兒茶素與表兒茶素最大峰面積為最佳兒茶萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 20 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%甲醇 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 20 分鐘，離心 5 分鐘(約 3000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液轉移至 50 mL 之定量瓶中，加 50%甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 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

1. 準確稱取標準品兒茶素 5.0 mg，加 10 mL 甲醇製成每 1 mL 含 500 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 150 µg/mL 製成對照標準品溶液。
2. 準確稱取標準品表兒茶素 5.0 mg，加 10 mL 甲醇製成每 1 mL 含 500 µg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 100 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 20 mg，置 50 mL 離心管中，加入 50% 甲醇 40 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 20 分鐘，離心 5 分鐘(約 $3000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，轉移至 50 mL 之定量瓶中，加 50% 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兒茶素與表兒茶素的含量，即得。

(六) 檢量線

1. 準確吸取兒茶素標準品儲備液適量(500 µg/mL)，以甲醇稀釋成含兒茶素分別為 500、200、150、100、80、40、10 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 。
2. 準確吸取表兒茶素標準品儲備液適量(500 µg/mL)，以甲醇稀釋成含表兒茶素分別為 500、250、100、50、25、10、5.0 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

1. 以兒茶素濃度為 150 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以兒茶素的波峰面積為指標，求出相對標準差。
2. 以表兒茶素濃度為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以表兒茶素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售兒茶粉末，依兒茶檢品溶液製備方法平行製備 5 份兒茶檢品溶液，進樣測定，以兒茶素與表兒茶素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售兒茶粉末，依兒茶檢品溶液製備方法製備兒茶檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以兒茶素與表兒茶素的含量為指標，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 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

1. 取已知兒茶素含量的兒茶粉末 5 份，每份準確稱取約 10 mg，分別加入兒茶素 2.3 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。
2. 取已知表兒茶素含量的兒茶粉末 5 份，每份準確稱取約 10 mg，分別加入 1 mL 的表兒茶素溶液(0.3 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：COSMOSIL5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35°C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%乙酸(v/v, %)
0	25	75
15	25	75

(十二) 臺灣市售兒茶含量測定

取 10 批市售兒茶藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品兒茶素與表兒茶素的百分比含量。

(十三) 兒茶檢品之 UPLC 分析條件

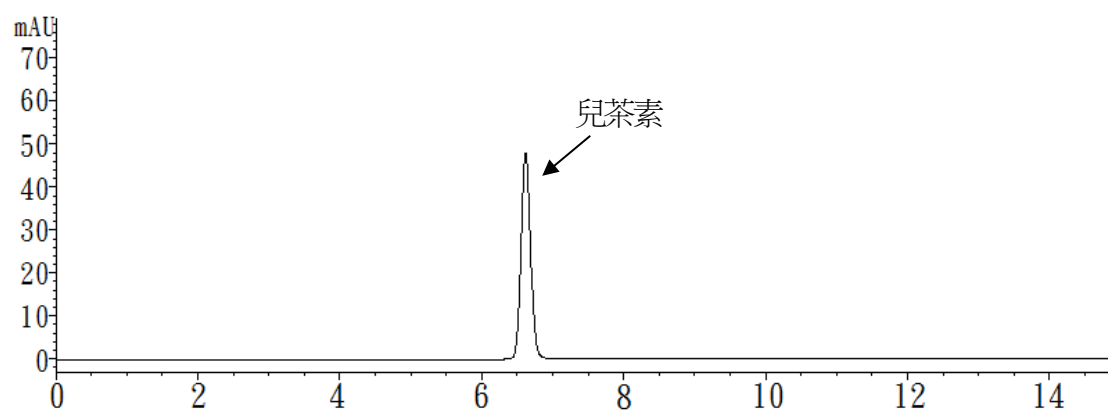
1. 層析管：Thermo syncromis C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 $^{\circ}$ C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	0.1%乙酸(v/v, %)
0	25	75
3	25	75
5	100	0

五、結果

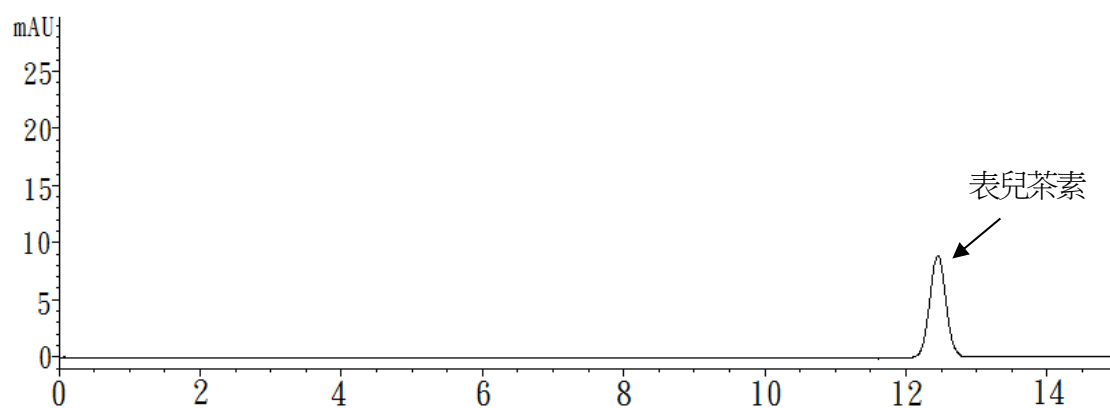
(一) 標準品兒茶素與表兒茶素之 HPLC 層析

於滯留時間 6.64 分鐘處顯示兒茶素標準品波峰(圖一)。



圖一、兒茶素標準品溶液之 HPLC 層析圖

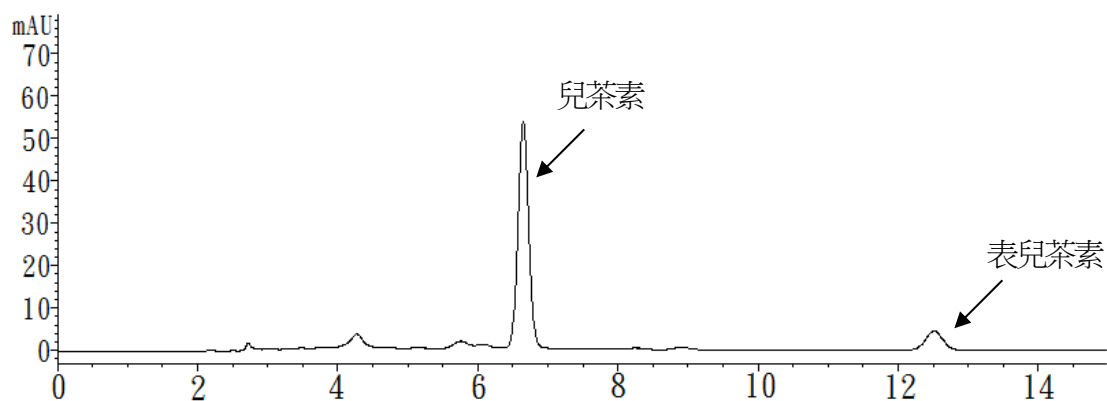
於滯留時間 12.50 分鐘處顯示表兒茶素標準品波峰(圖二)。



圖二、表兒茶素標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售兒茶檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 6.64 與 12.50 分鐘處分別顯示兒茶素與表兒茶素波峰(圖三)。兒茶素分離率(R)為 18.92，拖尾因子(T)為 1.06，表兒茶素分離率(R)為 9.76，拖尾因子(T)為 1.00，均在系統適用性要求內。



圖三、市售兒茶檢品之 HPLC 層析圖

表一、兒茶素與表兒茶素之分離率與拖尾因子

	兒茶素	表兒茶素
分離率	18.92	9.76
拖尾因子	1.06	1.00

(三) 最佳萃取條件開發

以 50% 甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得兒茶素與表兒茶素的波峰面積最大，顯示 50% 甲醇為最佳萃取溶媒。

表二、不同條件萃取比較

溶媒	兒茶素 波峰面積	表兒茶素 波峰面積	最佳萃取
甲醇	351.38	51.22	
75% 甲醇	537.26	73.82	
50% 甲醇	565.46	75.72	√
25% 甲醇	537.18	73.18	
乙醇	262.80	26.37	
75% 乙醇	387.81	51.36	
50% 乙醇	534.13	73.60	
25% 乙醇	533.76	68.03	

(四) 最佳萃取次數評估

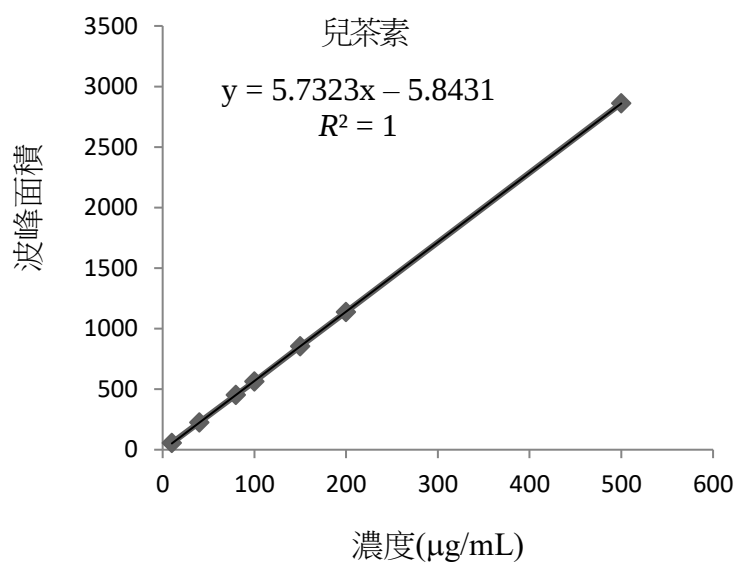
結果顯示萃取 1 次基本上已將兒茶素與表兒茶素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表三、兒茶檢品萃取次數評估

50%甲醇萃取次數	兒茶素波峰面積	表兒茶素波峰面積
第 1 次	536.6	75.7
第 2 次	N.D.	N.D.

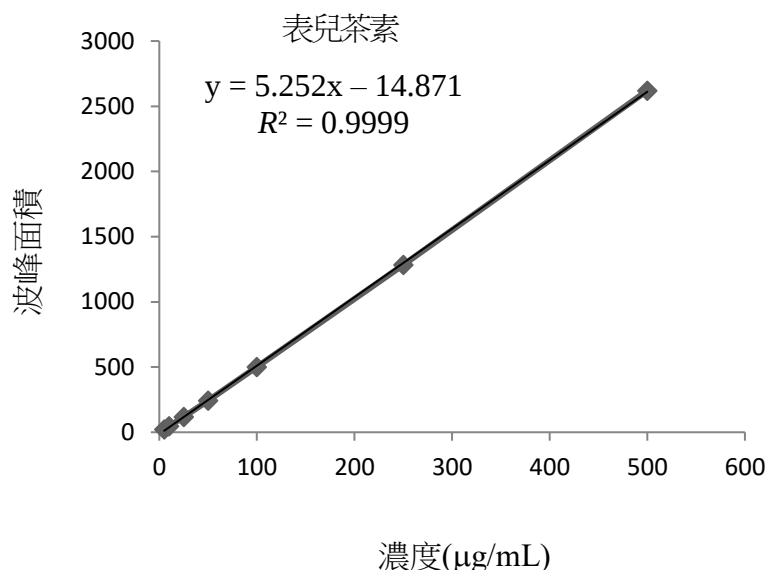
(五) 標準品兒茶素與表兒茶素檢量線

1. 經不同濃度兒茶素(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 $y = 5.7323x - 5.8431$ ， $R^2 = 1$ ，顯示濃度在 10–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。



圖四、兒茶素之檢量線圖

2. 經不同濃度表兒茶素(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 $y = 5.252x - 14.871$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 5.0–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、表兒茶素之檢量線圖

表四、兒茶素與表兒茶素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
兒茶素	10–500	$y = 5.7323x - 5.8431$	1
表兒茶素	5.0-500	$y = 5.252x - 14.871$	0.9999

(六) 精密度試驗

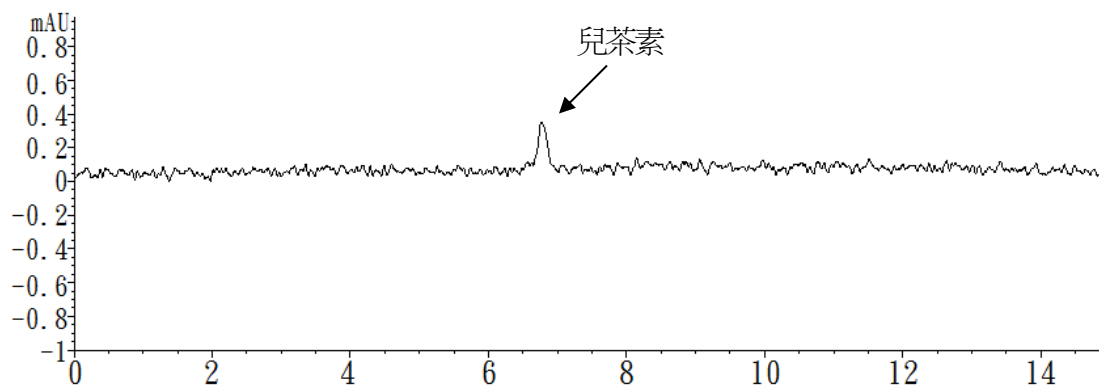
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，兒茶素與表兒茶素精密度之相對標準差分別為 0.60%、0.95%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

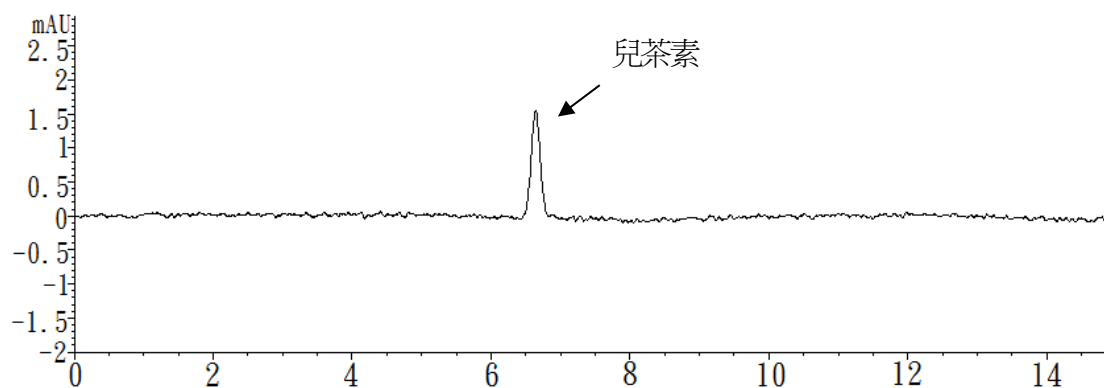
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，兒茶素與表兒茶素重複性之相對標準差分別為 1.78%、1.04%，在系統適用性要求內。兒茶素與表兒茶素在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差分別為 1.58%、1.18%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

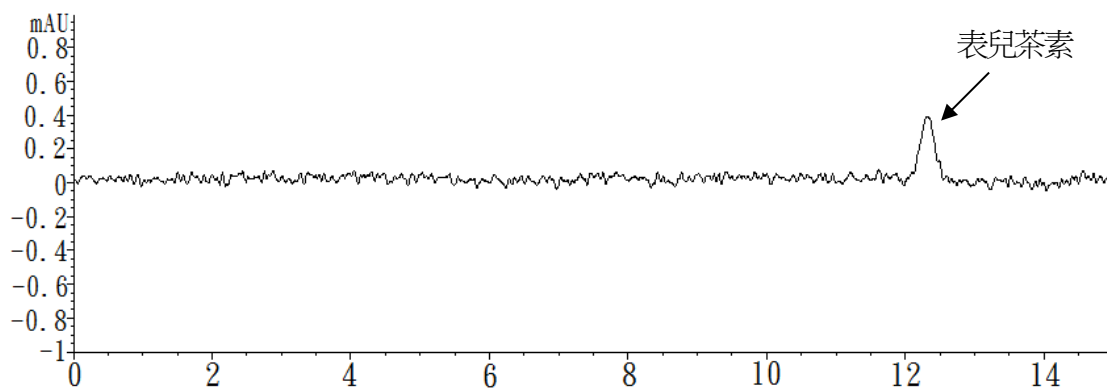
兒茶素偵測極限為 $0.5\ \mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限為 $2.5\ \mu\text{g/mL}$ (圖七)。
表兒茶素偵測極限為 $1.0\ \mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限為 $2.5\ \mu\text{g/mL}$ (圖九)。



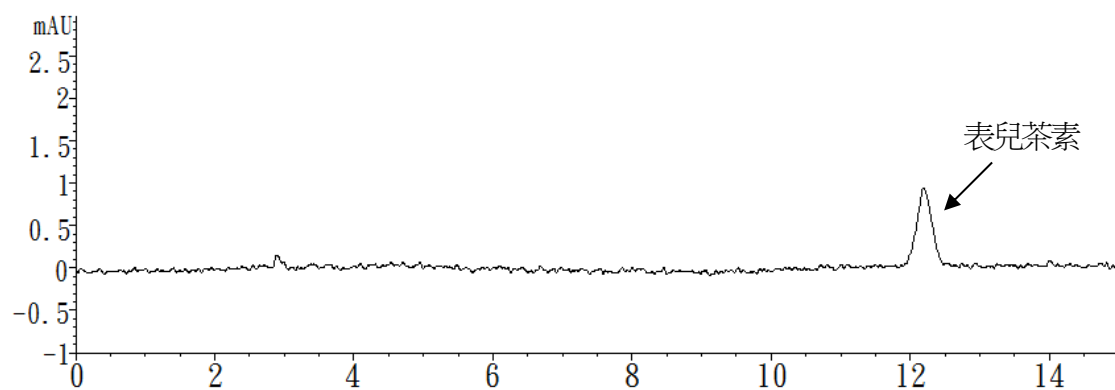
圖六、兒茶素之偵測極限層析圖



圖七、兒茶素之定量極限層析圖



圖八、表兒茶素之偵測極限層析圖



圖九、表兒茶素之定量極限層析圖

表五、各項檢驗分析

檢測項目	兒茶素		表兒茶素	
	濃度	R.S.D. (%)	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	150 µg/mL	0.60	100 µg/mL	0.95
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	1.78	檢品溶液(No.2)	1.04
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	1.58	檢品溶液(No.2)	1.18
偵測極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-	1.0 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	2.5 µg/mL	-	2.5 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

兒茶素平均添加回收率為 98.5%，相對標準偏差為 2.11%(表六)。表兒茶素平均添加回收率為 94.5%，相對標準偏差為 3.03%(表七)。

表六、兒茶素添加回收率試驗

編號	藥材稱重 (mg)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率(%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	10.00	2.409	2.3	4.630	96.57	98.5	2.11
2	10.20	2.409	2.3	4.630	96.57		
3	10.20	2.409	2.3	4.688	99.09		
4	10.10	2.409	2.3	4.759	102.17		
5	10.00	2.409	2.3	4.660	97.87		

表七、表兒茶素添加回收率試驗

編號	藥材稱重 (mg)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率(%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	10.00	0.324	0.3	0.598	91.33	94.5	3.03
2	10.00	0.324	0.3	0.600	92.00		
3	10.10	0.324	0.3	0.622	99.33		
4	10.10	0.324	0.3	0.611	95.66		
5	10.00	0.324	0.3	0.607	94.33		

(十) 臺灣市售兒茶含量測定

10 批兒茶藥材之含量測定結果(乾燥品)如表八所示，兒茶素的含量為 21.898–29.636%；表兒茶素的含量為 2.029–5.060%；兒茶素與表兒茶素的總含量為 23.927–34.696%。建議兒茶藥材指標成分兒茶素與表兒茶素的總含量不得少於 21.0%。理論板數按兒茶素波峰計算應不低於 4000(實際值為 12000)；表兒茶素波峰計算應不低於 4000 (實際值為 13000)。

表八、臺灣市售兒茶檢品之兒茶素與表兒茶素含量

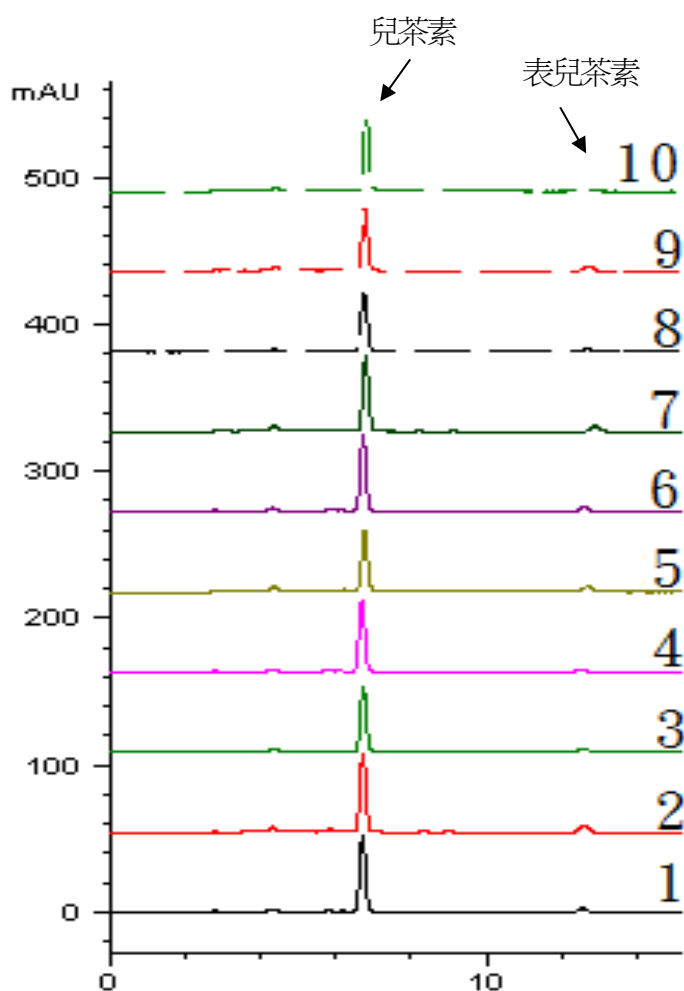
藥材編號 (No.)	兒茶素 含量(%)	表兒茶素 含量(%)	兒茶素+表兒茶素 含量(%)
1 (CA)	26.218	2.814	29.032
2 (ND)	27.424	3.667	31.091
3 (NF)	29.636	5.060	34.696
4 (NJ)	23.709	3.232	26.941
5 (SE)	21.898	2.029	23.927
6 (SG)	27.287	2.370	29.657
7 (SUB)	27.648	4.685	32.333
8 (SUBB)	23.013	2.256	25.269
9 (SUC)	21.991	4.122	26.113
10 (SUCC)	27.738	2.501	30.239
平均值±S.D.	25.656±2.62	3.274±1.01	28.930±3.19

(十一) 兒茶藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售兒茶檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR-II Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 280 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：

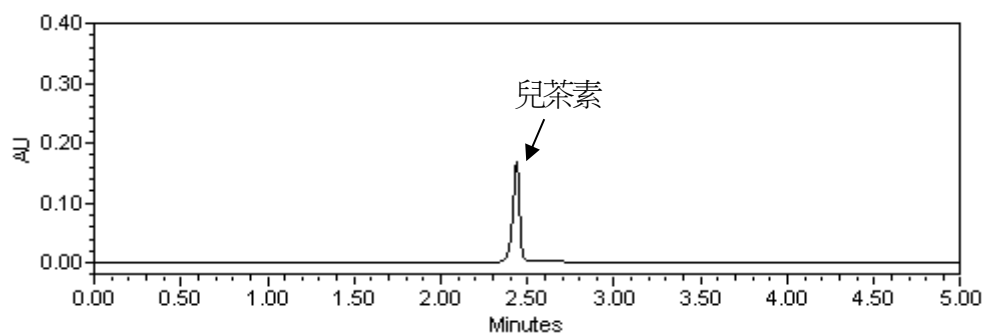
時間(min)	甲醇(%)	0.1%乙酸(v/v, %)
0	25	75
15	25	75



圖十、10 批兒茶藥材之 HPLC 指紋圖譜

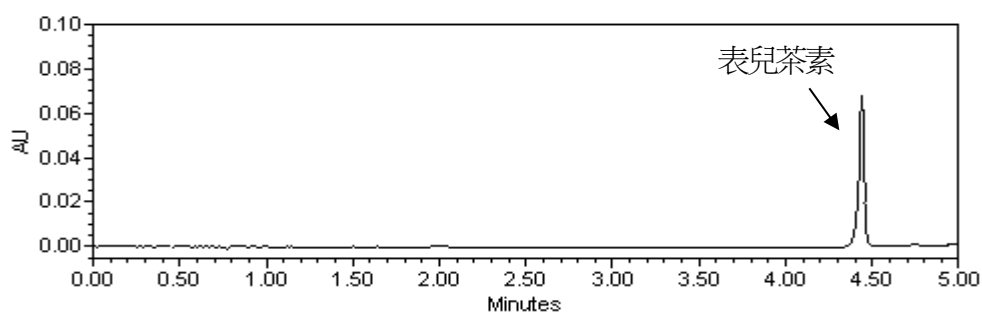
(十二) 標準品兒茶素與表兒茶素之 UPLC 層析

於滯留時間 2.44 分鐘處顯示兒茶素標準品波峰(圖十一)。



圖十一、兒茶素標準品溶液之 UPLC 層析圖

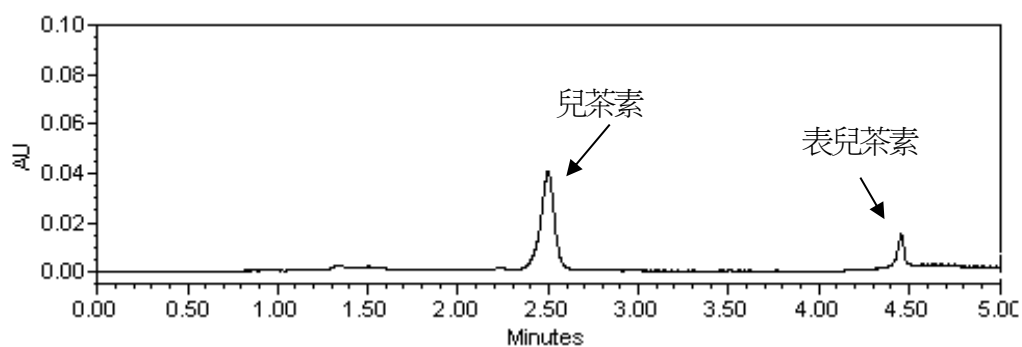
於滯留時間 4.43 分鐘處顯示表兒茶素標準品波峰(圖十二)。



圖十二、表兒茶素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售兒茶檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.49 與 4.45 分鐘處顯示兒茶素與表兒茶素波峰(圖十三)。

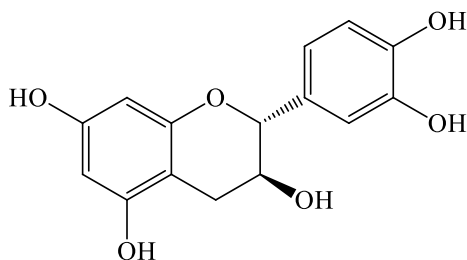


圖十三、市售兒茶檢品之 UPLC 層析圖

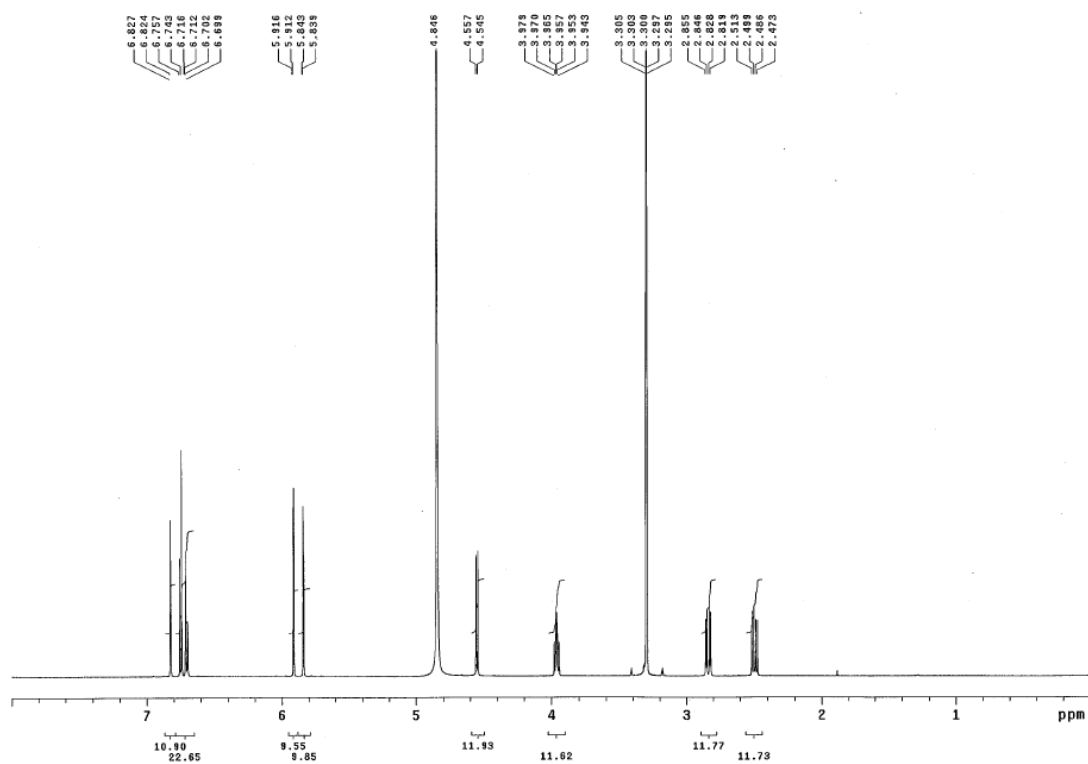
(十四) 兒茶素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{14}O_6$ ；分子量：290.27；熔點：175–177 °C；黃色粉末。

(十五) 兒茶素的結構

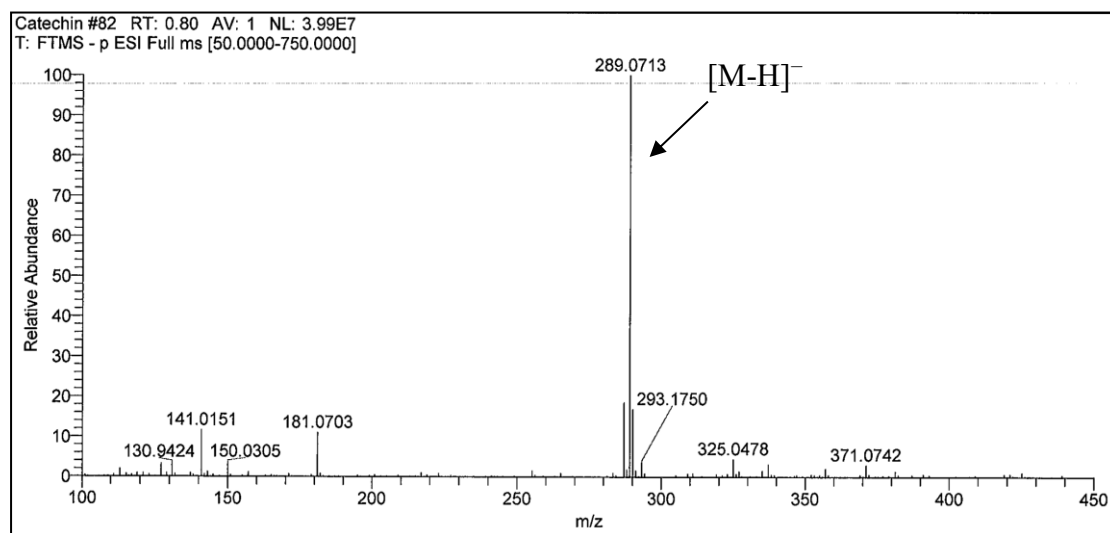


(十六) 兒茶素的 1H NMR 圖譜



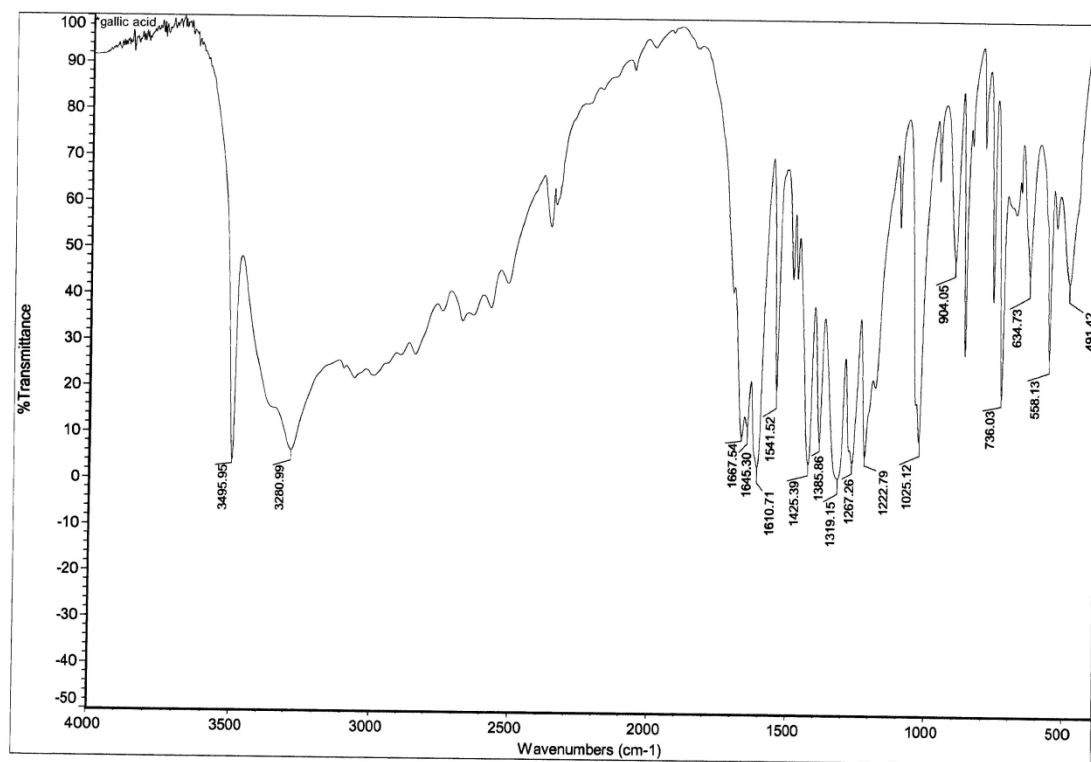
圖十四、兒茶素的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 兒茶素的 ESI-MS 圖譜



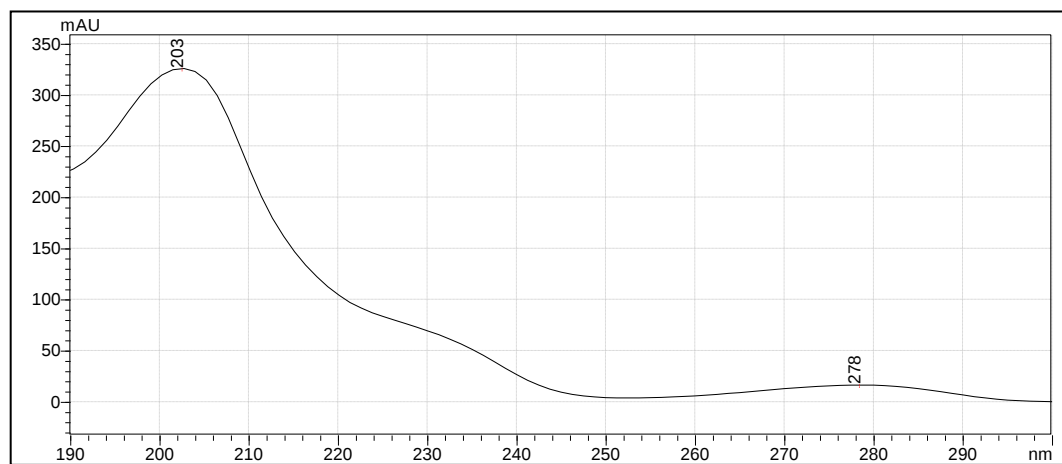
圖十六、兒茶素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 兒茶素的 FTIR 圖譜



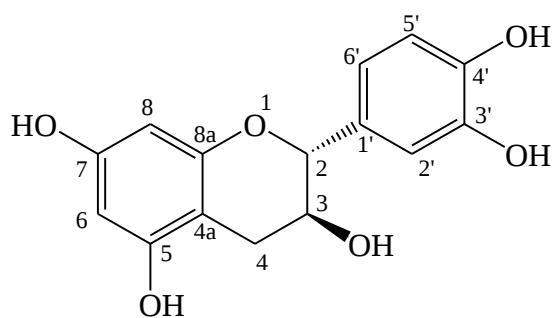
圖十七、兒茶素的 FTIR 圖譜

(二十) 兒茶素的 UV 圖譜



圖十八、兒茶素的 UV 圖譜

(二十一) 兒茶素的氫、碳化學位移



兒茶素

表十二、兒茶素氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

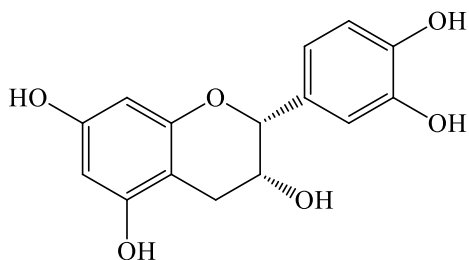
position	δ _H (600 MHz)	δ _C (150 MHz)
2	4.55 (d, 7.2)	82.9
3	3.94–3.98 (m)	68.8
4	2.49 (dd, 16.2, 7.8), 2.84 (dd, 16.2, 5.4)	28.5
4a	-	100.8
5	-	157.6
6	5.91 (d, 2.4)	96.3
7	-	157.9
8	5.84 (d, 2.4)	95.5
8a	-	156.9
1'	-	132.2
2'	6.83 (d, 1.8)	115.3
3'	-	146.2*
4'	-	146.3*
5'	6.75 (d, 8.4)	116.1
6'	6.71 (dd, 8.4, 1.8)	120.0

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

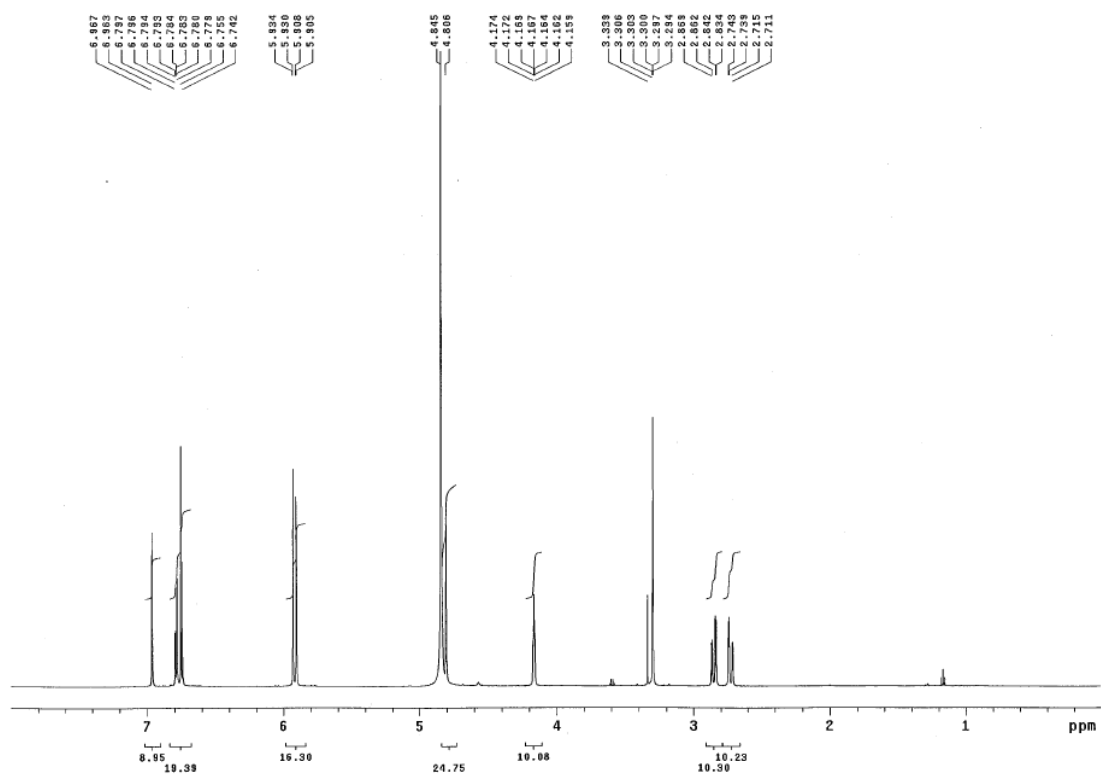
(二十二) 表兒茶素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{14}O_6$ ；分子量：290.27；熔點：239–240 °C；白色粉末。

(二十三) 表兒茶素結構

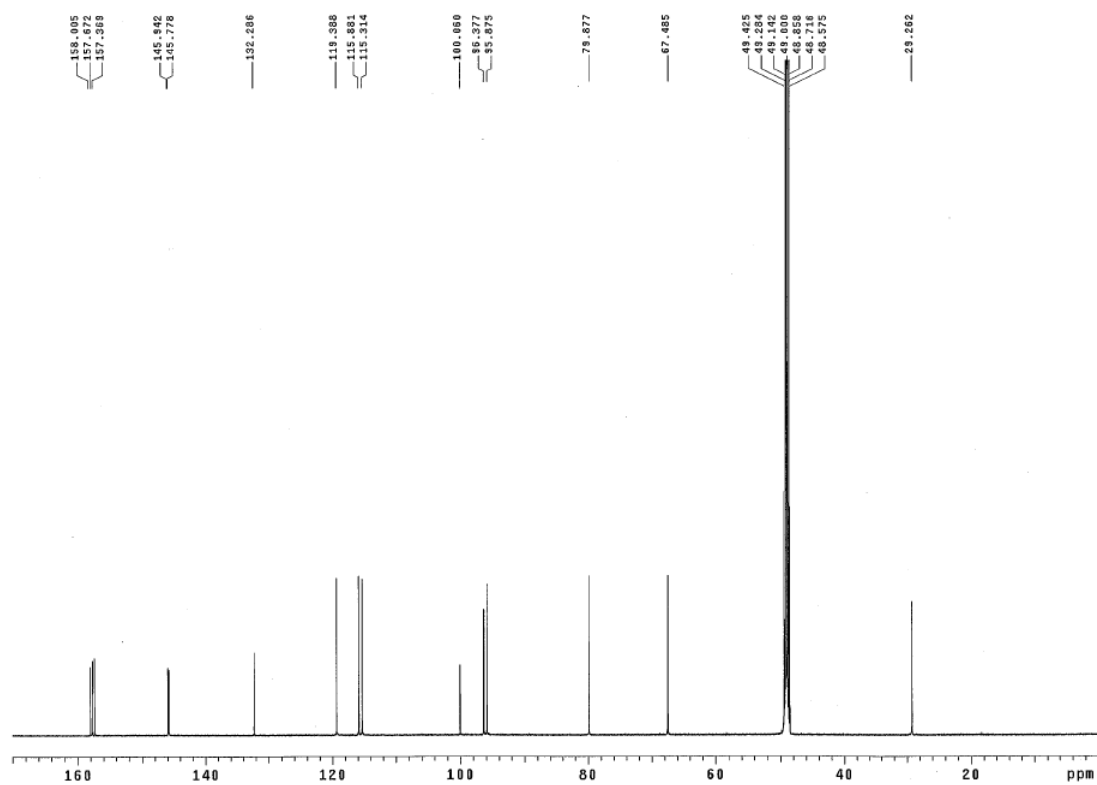


(二十四) 表兒茶素 1H NMR 圖譜



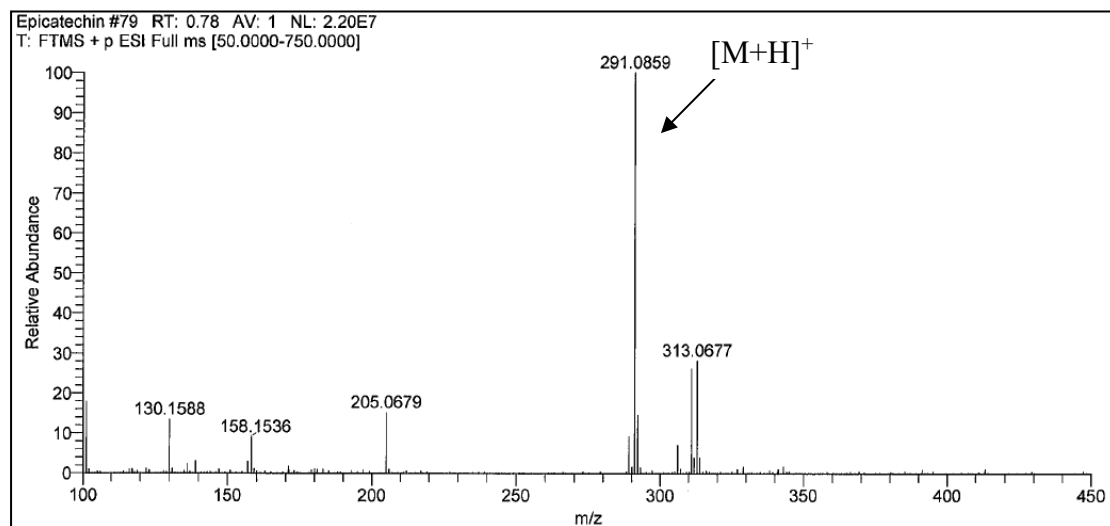
圖十九、表兒茶素的 1H NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十五) 表兒茶素 ^{13}C NMR 圖譜



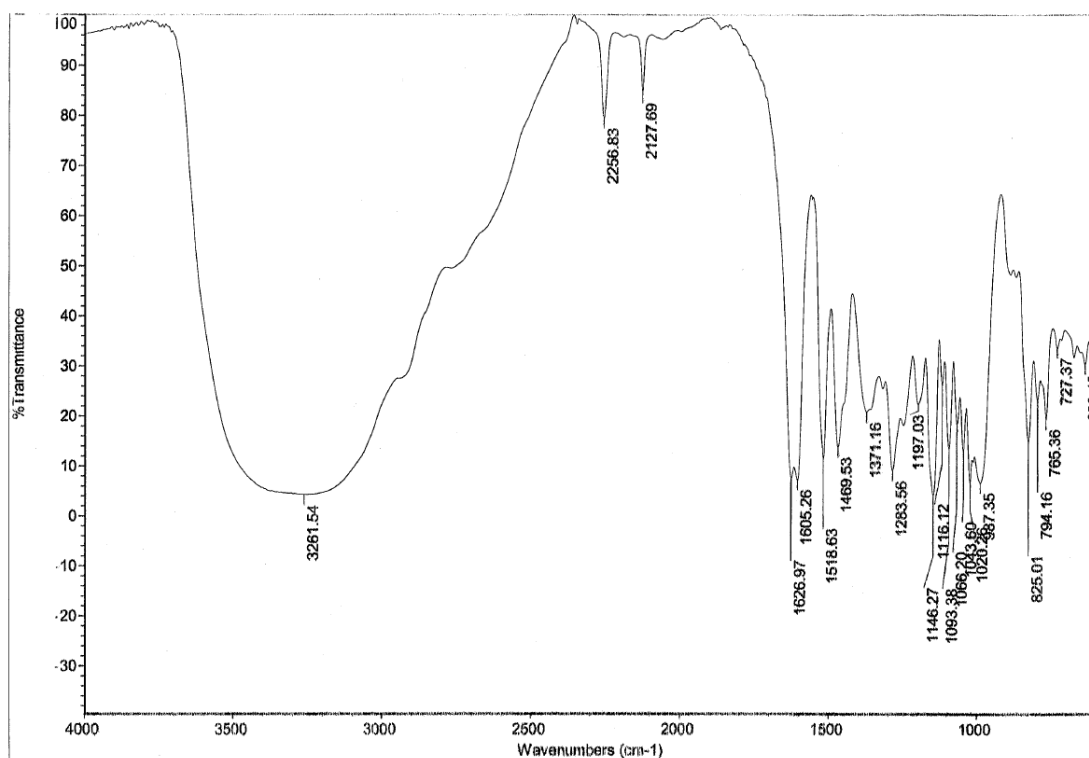
圖二十、表兒茶素的 ^{13}C NMR 圖譜(CD_3OD)

(二十六) 表兒茶素 ESI-MS 圖譜



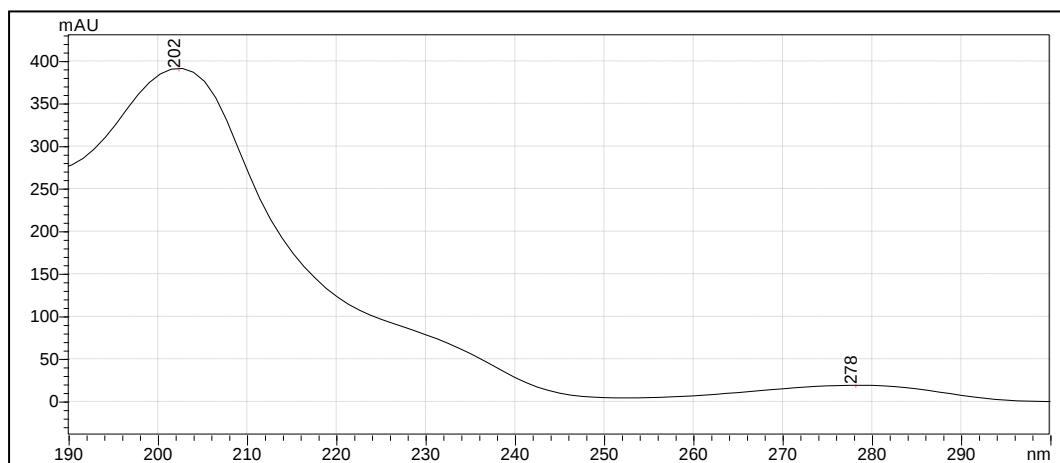
圖二十一、表兒茶素的 ESI-MS 圖譜

(二十七) 表兒茶素的 FTIR 圖譜



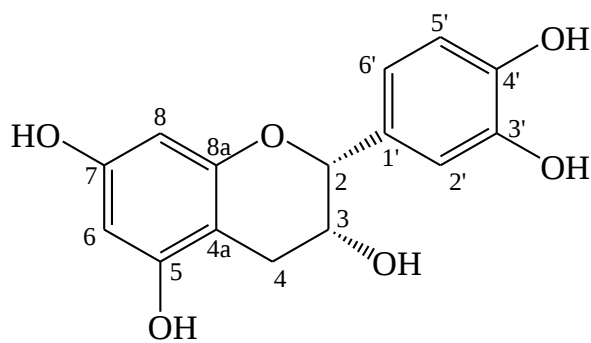
圖二十二、表兒茶素的 FTIR 圖譜

(二十八) 表兒茶素的 UV 圖譜



圖二十三、表兒茶素的 UV 圖譜

(二十九) 表兒茶素氫、碳化學位移



表兒茶素

表十三、表兒茶素氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	鯨 _H (600 MHz)	鯨 _C (150 MHz)
2	4.81 (s)	79.9
3	4.16–4.17 (m)	67.5
4	2.73 (dd, 16.8, 2.4), 2.85 (dd, 16.8, 4.8)	29.3
4a	-	100.1
5	-	158.0
6	5.93 (d, 2.4)	96.4
7	-	157.7
8	5.91 (d, 2.4)	95.9
8a	-	157.4
1'	-	132.3
2'	6.96 (d, 2.4)	115.3
3'	-	145.8*
4'	-	145.9*
5'	6.75 (d, 7.8)	115.9
6'	6.78–6.80(m)	119.4

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

兒茶

生藥名：CATECHU

英文名：Catechu

基 原：本品為豆科 Leguminosae 植物兒茶 *Acacia catechu* (L.f.) Willd. 心材水煎煮濃縮汁乾燥浸膏或茜草科 Rubiaceae 植物兒茶鉤藤 *Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb. 帶葉嫩枝水煎煮濃縮之乾燥浸膏。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)

——取本品粉末 0.5 g，加乙醚 30 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 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 0.5 g，加乙酸乙酯 30 mL，超音波振盪 10 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加甲醇 5 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取兒茶素(Catechin)、表兒茶素(Epicatechin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 各含 1.0 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】(臺灣中藥典第三版 2018)

——正丁醇：冰乙酸：水 (3：2：1)

【展開劑 2】(自行開發) ✓

——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1)

(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 以 10%硫酸乙醇試液(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105 °C 加熱至條帶顯色清晰，於可見光照射下檢視。

二、萃法選擇及濃度測試

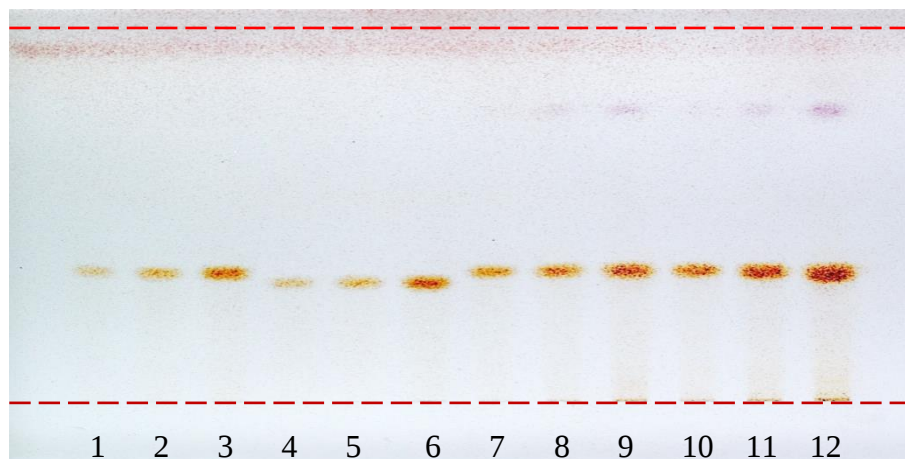
實驗日期：109/01/08

相對溼度(RH)：41%

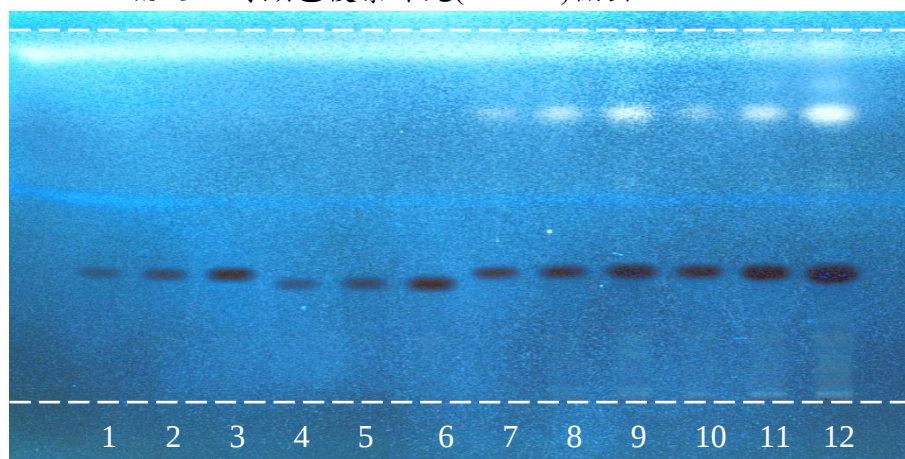
溫度(RT)：25.5 °C

【展開劑 2】（自行開發）——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1)

—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	兒茶素(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	表兒茶素(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 8【萃取方法 1】	1, 2, 5 μ L
10, 11, 12	檢品溶液 8【萃取方法 2】	1, 2, 5 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品兒茶素，但未檢出表兒茶素，擇一選擇，故採用自行開發之【萃取方法 2】。

建議點注量：兒茶素標準品溶液 5 μ L，表兒茶素標準品溶液 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】 2 μ L。

三、溶媒系統選擇

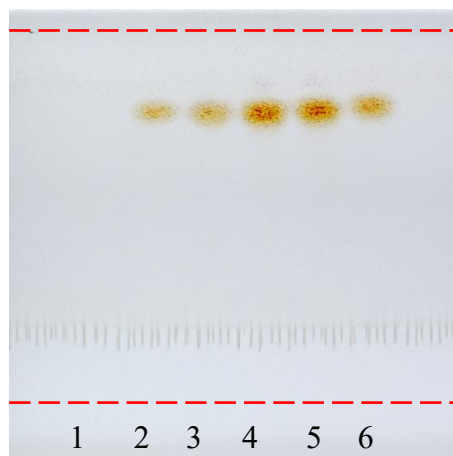
實驗日期：109/01/08

相對溼度(RH)：41%

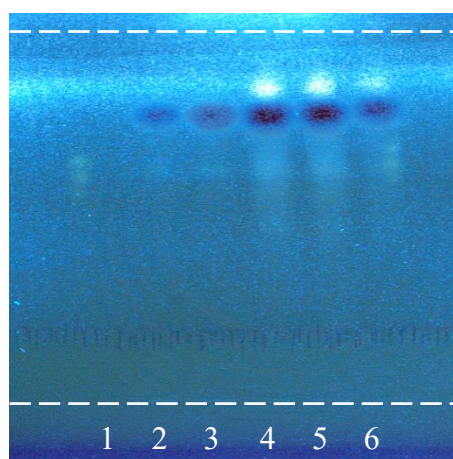
溫度(RT)：25.5 °C

【展開劑 1】 (臺灣中藥典第三版 2018)——正丁醇：冰乙酸：水 (3：2：1)

【萃取方法 2】 (自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(兒茶素 R_f 值為 0.78，表兒茶素 R_f 值為 0.78)



【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(R_f 值為 0.78，表兒茶素 R_f 值為 0.78)



1：Blank

2：兒茶素

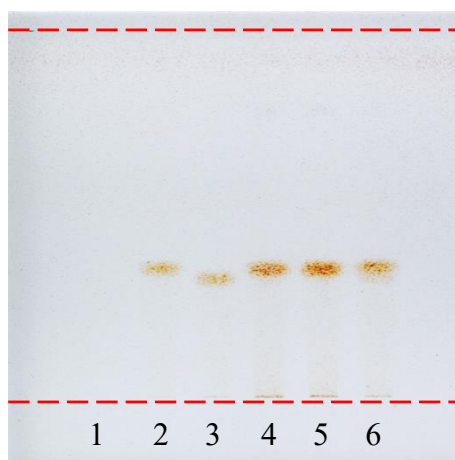
3：表兒茶素

4，5：檢品溶液 8

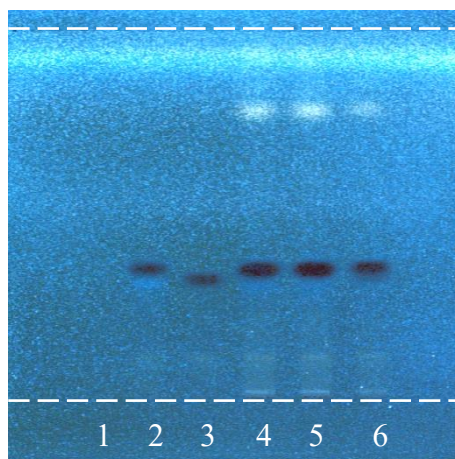
6：Spike

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1) ✓

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出(兒茶素 R_f 值為 0.33，表兒茶素 R_f 值為 0.30)



【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(兒茶素 R_f 值為 0.33，表兒茶素 R_f 值為 0.30)



- 1：Blank
- 2：兒茶素
- 3：表兒茶素
- 4，5：檢品溶液 8
- 6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 2】方式及【展開劑 2】展開條件下，由於分離效果較佳，且指標成分 R_f 值較趨近於中間值，故採用自行開發之【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：108/01/08

相對溼度(RH)：41%

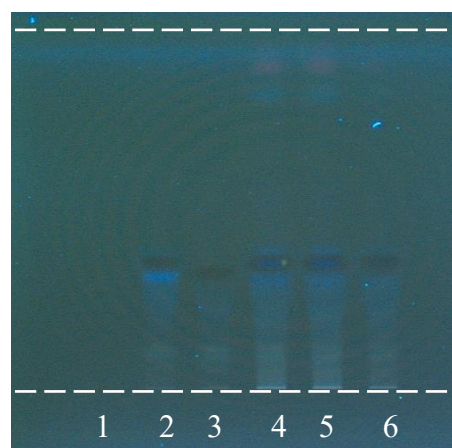
溫度(RT)：25.5 °C

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1)

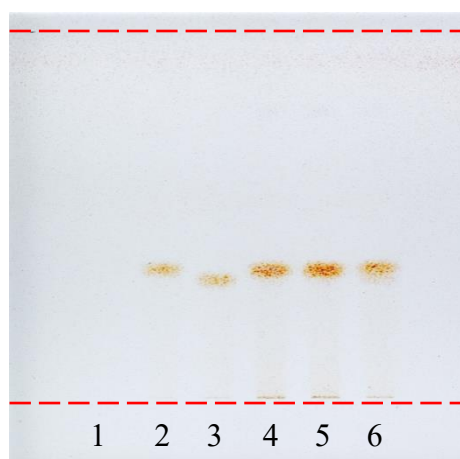
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 可見光檢出



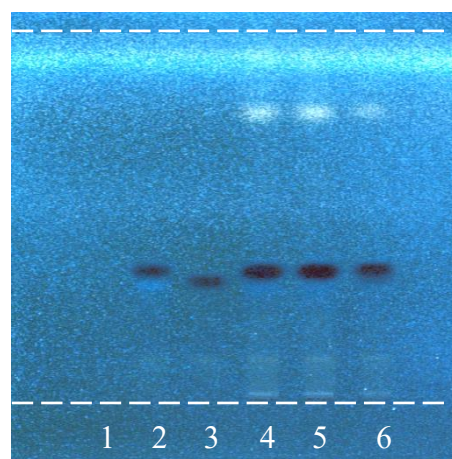
【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出✓



【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：兒茶素

3：表兒茶素

4，5：檢品溶液 8

6：Spike

建議觀察方式：10%硫酸/乙醇顯色後於可見光或紫外光(365 nm)下檢視，皆有較明顯分離之條帶。

五、十批兒茶樣品檢測

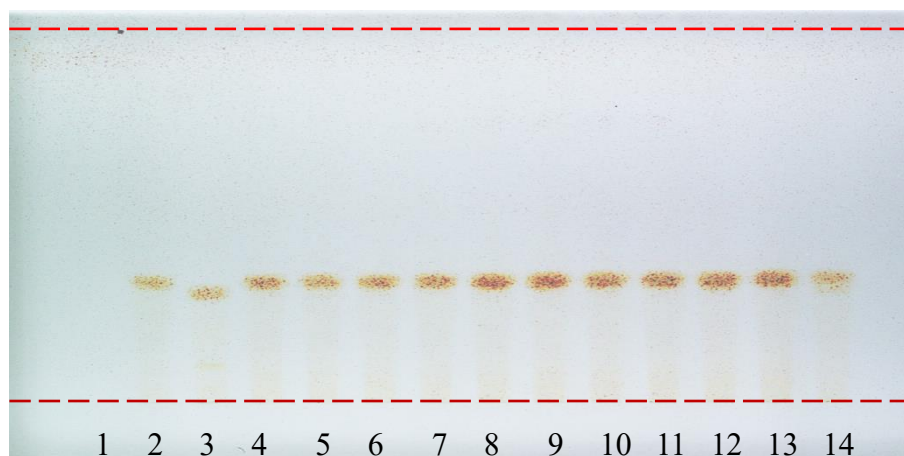
實驗日期：109/01/09

相對溼度(RH)：41%

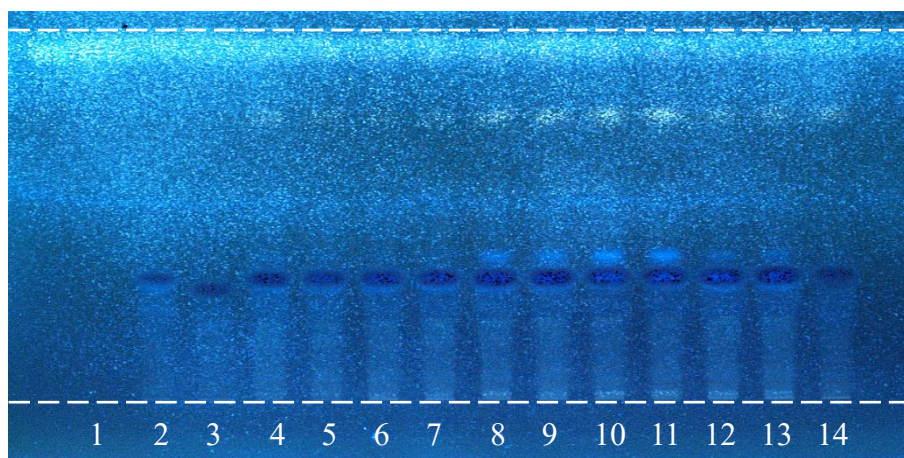
溫度(RT)：24.3 °C

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1)

【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



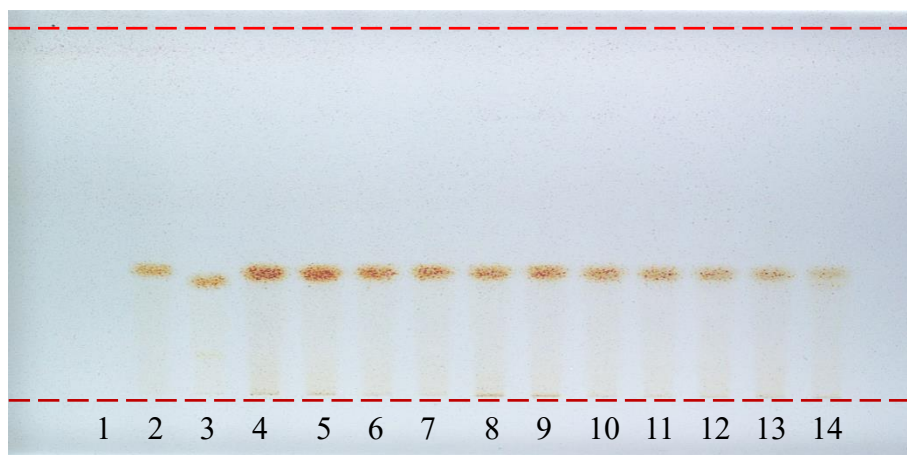
【萃取方法 2】(自行開發)——HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



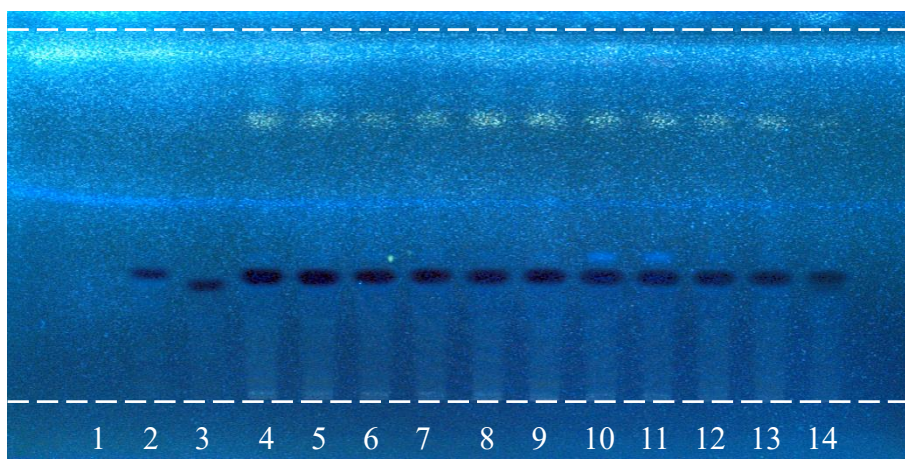
1	Blank
2	兒茶素(1.0 mg/mL)
3	表兒茶素(1.0 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 1 (NF)
6, 7	檢品溶液 2 (SUB)
8, 9	檢品溶液 3 (ND)
10, 11	檢品溶液 4 (SG)
12, 13	檢品溶液 5 (SUCC)
14	Spike (檢品溶液 8)

【展開劑 2】(自行開發)——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (4：4：1)

【萃取方法 2】(自行開發)－HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



【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	兒茶素(1.0 mg/mL)
3	表兒茶素(1.0 mg/mL)
4，5	檢品溶液 6 (CA)
6，7	檢品溶液 7 (NJ)
8，9	檢品溶液 8 (SE)
10，11	檢品溶液 9 (SUBB)
12，13	檢品溶液 10 (SUC)
14	Spike (檢品溶液 8)

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 2】分離與檢出兒茶素較佳，於可見光或紫外光(365 nm)下檢視較佳。由於表兒茶素含量很少，不易檢出，建議不訂表兒茶素為對照標準品。

