

胡椒

(PIPERIS FRUCTUS)

胡椒 MI	2
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）	3
胡椒 HPLC（藥材—白胡椒）	11
一、材料	11
二、儀器及層析管柱	11
三、實驗藥品及試劑來源	11
四、方法	11
五、結果	14
胡椒 HPLC（藥材—黑胡椒）	20
一、材料	20
二、儀器及層析管柱	20
三、實驗藥品及試劑來源	20
四、方法	20
五、結果	23
胡椒 TLC（藥材）	32
一、方法	32
二、萃法選擇及濃度測試	33
三、溶媒系統選擇	34
四、觀察方式選擇	36
五、十批黑胡椒藥材樣品檢測	37
五、十批白胡椒藥材樣品檢測	39

胡椒

(PIPERIS 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胡椒的之乾燥接近成熟果實或去皮成熟果核。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：胡椒

生藥名：PIPERIS FRUCTUS

英文名：Pepper

基原：本品為胡椒科 Piperaceae 植物胡椒 *Piper nigrum* L.之乾燥接近成熟果實或去皮成熟果核。乾燥接近成熟果實稱黑胡椒，去皮成熟果核稱白胡椒。

採收加工：於秋末至隔年春季，果實呈暗綠色時採收，乾燥，即為黑胡椒；果實轉紅時採收，用水浸泡數日後擦去果肉，乾燥，即為白胡椒。

藥材性狀：黑胡椒：本品為帶果皮之近成熟果實，呈球形，直徑 0.3~0.6 cm，表面呈黑褐色，具網狀皺紋。頂端有微細突起的柱頭殘跡，基部有自果軸脫下的疤痕。外果皮及中果皮質鬆脆，易剝落，內果皮稍堅硬，灰白色或淡黃色，斷面呈黃白色，具粉性，中央有小空隙，靠近頂端有細小的胚。氣芳香，有刺激性，味辛辣。

白胡椒：本品為除去果皮之成熟果核，圓球形或略呈長圓球形，直徑 0.3~0.5 cm，表面呈灰白色，平滑，頂端略扁微凹，基部略尖，有時顯黑棕色斑，頂端與基部間有多數淺色線狀條紋。內果皮及種子其餘性狀均與黑胡椒同。

生長分佈：木質藤本。喜陽光充足、溫暖、濕潤環境，耐熱、忌積水，均溫 22~28℃地區且年降雨量達 1800~2800 mm 的地區均可栽培。以排水良好、深厚、肥沃的砂質壤土為宜。花期 4~10 月，果期 10 月至次年 4 月。原產於南印度，現今越南、印尼、馬來西亞、巴西、臺灣、中國等地皆有分布。藥材主產於印尼、印度、中國海南、廣西、雲南等地。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

黑胡椒：

1. 外果皮由 1 列表皮細胞及 2~3 列下皮層細胞組成。

2. 表皮細胞類長方形、類多角形，外壁波狀，切向排列，內含暗棕色至類黑色物，外被有角質層。
3. 下皮層為含黃棕色物質的類橢圓形薄壁細胞，中間夾有石細胞群，胞腔和孔溝明顯，有的含棕色物質。
4. 中果皮由 10~20 列薄壁細胞組成，有大型油細胞分布，並有細小維管束散在，其內側薄壁細胞較小，切向延長，壁微木質化，最內 1 列木質化薄壁細胞間嵌有油細胞，排列成環。
5. 內果皮為 1 列石細胞組成，類長方形，外壁薄，內壁厚。
6. 種皮外側為 2~3 列扁長形細胞組成，內含棕色物質；內側為薄膜透明細胞層。
7. 外胚乳為寬廣的薄壁組織，外側 1~2 層細胞含糊粉粒，內側為薄壁細胞層，油細胞散列。

白胡椒：

1. 與黑胡椒同，惟無外果皮，中果皮不完整，仍有油細胞散在。
2. 中果皮由 10~20 列薄壁細胞組成，有大型油細胞分布，並有細小維管束散在，其內側薄壁細胞較小，切向延長，壁微木質化，最內 1 列木質化薄壁細胞間嵌有油細胞，排列成環。
3. 內果皮為 1 列石細胞組成，類長方形，外壁薄，內壁厚。
4. 種皮外側為 2~3 列扁長形細胞組成，內含棕色物質；內側為薄膜透明細胞層。
5. 外胚乳為寬廣的薄壁組織，外側 1~2 層細胞含糊粉粒，內側為薄壁細胞層，油細胞散列。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

黑胡椒：

1. 本品粉末呈灰黑色。
2. 外果皮石細胞類圓形及長方形，直徑 15~40 μm ，胞腔和孔溝明顯，有的含棕色物質。
3. 中果皮薄壁細胞長方形或多角形，含黃棕色物質與澱粉粒。
4. 內果皮石細胞類長方形，長 30~50 μm ，寬 30~35 μm 。
5. 種皮細胞棕色，表面觀多角形，側面觀長方形，棕色。
6. 導管細小，多為網紋導管，偶可見螺紋，直徑 10~20 μm 。
7. 油細胞類圓形，常破碎，直徑 50~75 μm 。

白胡椒：

1. 本品粉末呈黃白色。
2. 種皮細胞、內果皮石細胞特徵與黑胡椒相似。
3. 中果皮薄壁細胞長方形或多角形，含黃棕色物質與澱粉粒。
4. 內果皮石細胞類長方形，長 30~50 μm ，寬 30~35 μm 。

5. 種皮細胞棕色，表面觀多角形，側面觀長方形，棕色。



圖 1A 黑胡椒藥材圖

- a.黑胡椒藥材圖 b.黑胡椒頂部放大圖 c.黑胡椒底部放大圖
d.黑胡椒橫切面放大圖

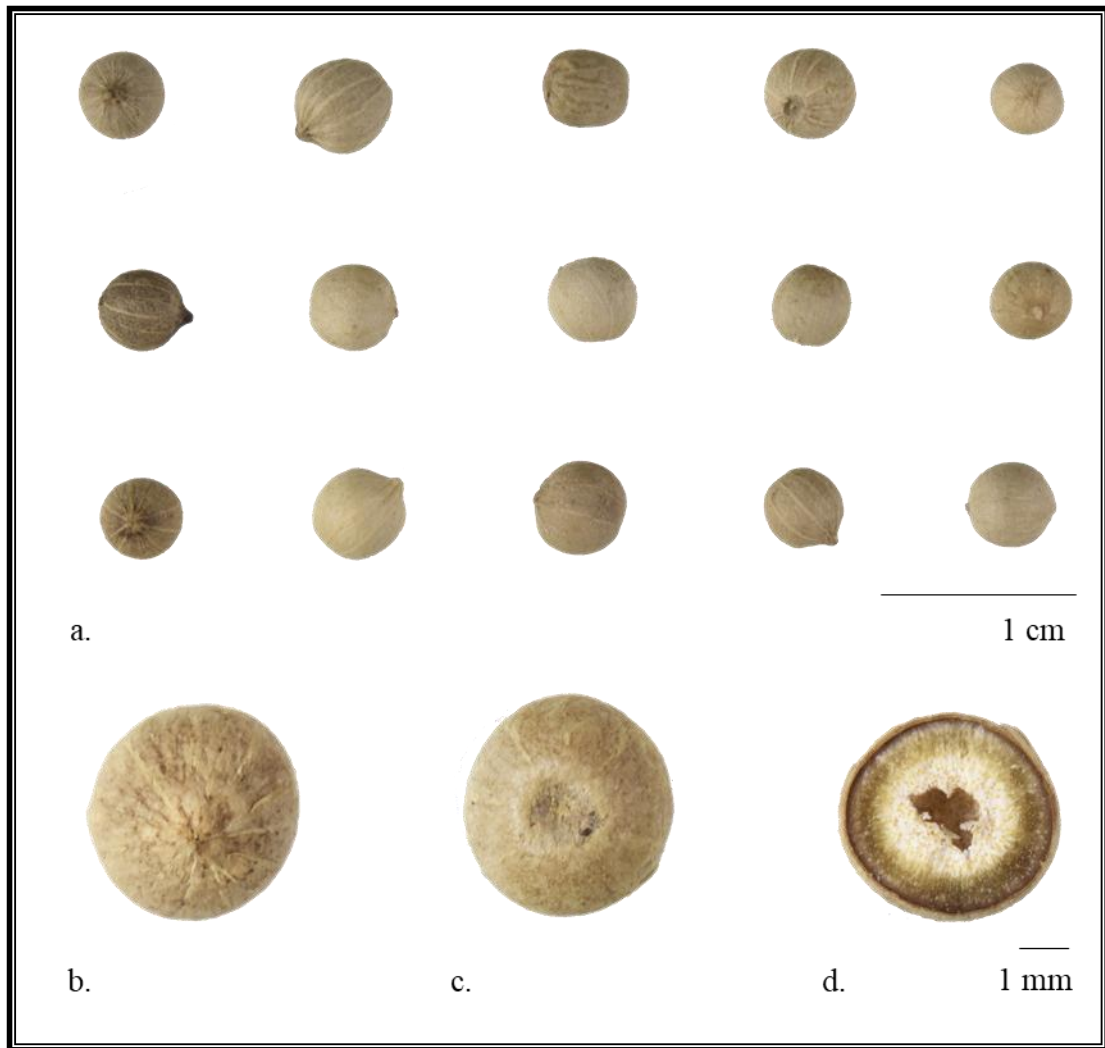


圖 1B 白胡椒藥材圖

a.白胡椒藥材圖 b.白胡椒頂部放大圖 c.白胡椒底部放大圖

d.白胡椒橫切面放大圖

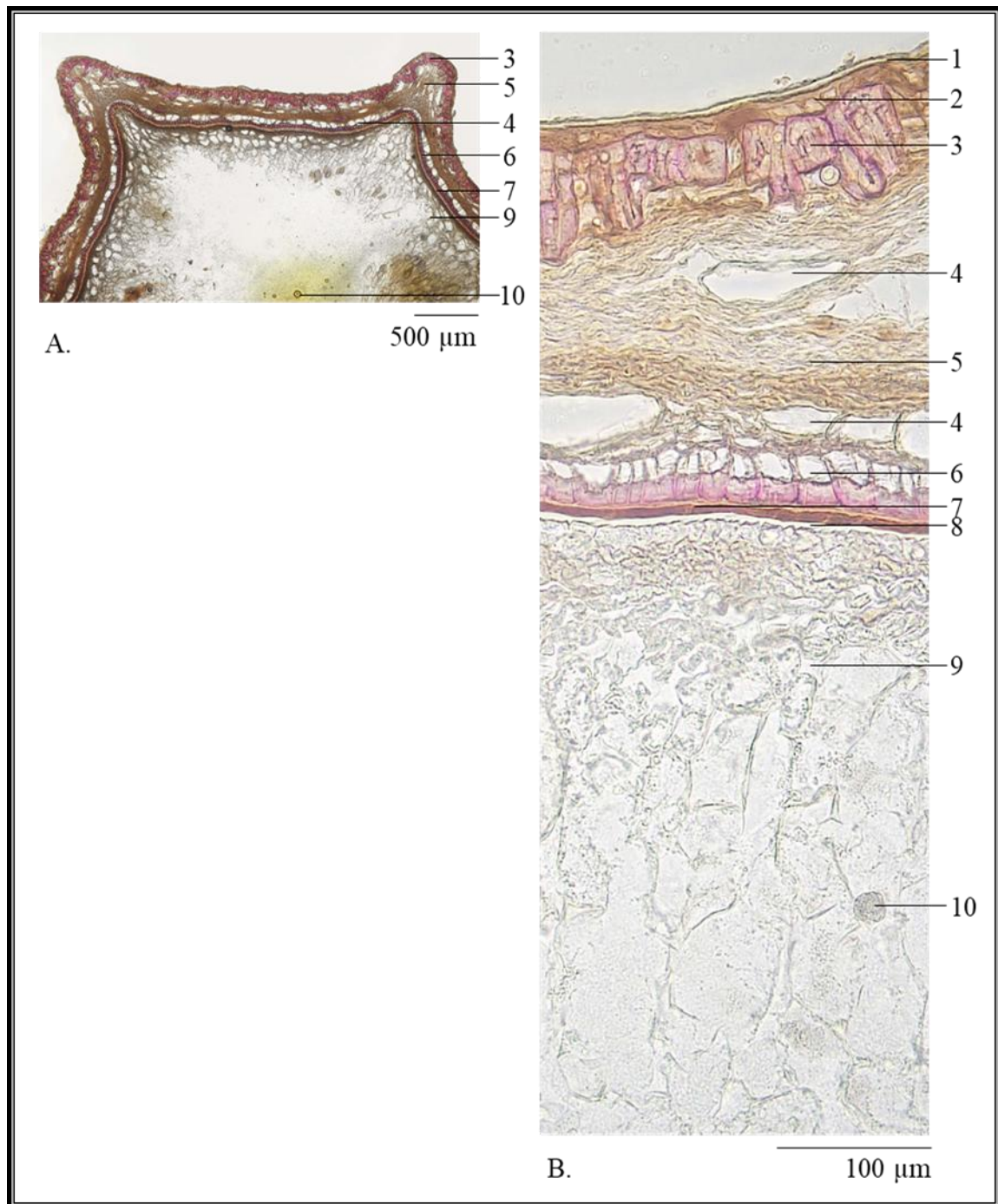


圖 2A 黑胡椒橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖

1.角質層 2.表皮細胞 3.下皮石細胞層 4.油細胞 5.中果皮細胞 6.內果皮石細胞層 7.棕色種皮 8.透明種皮 9.外胚乳 10.油滴

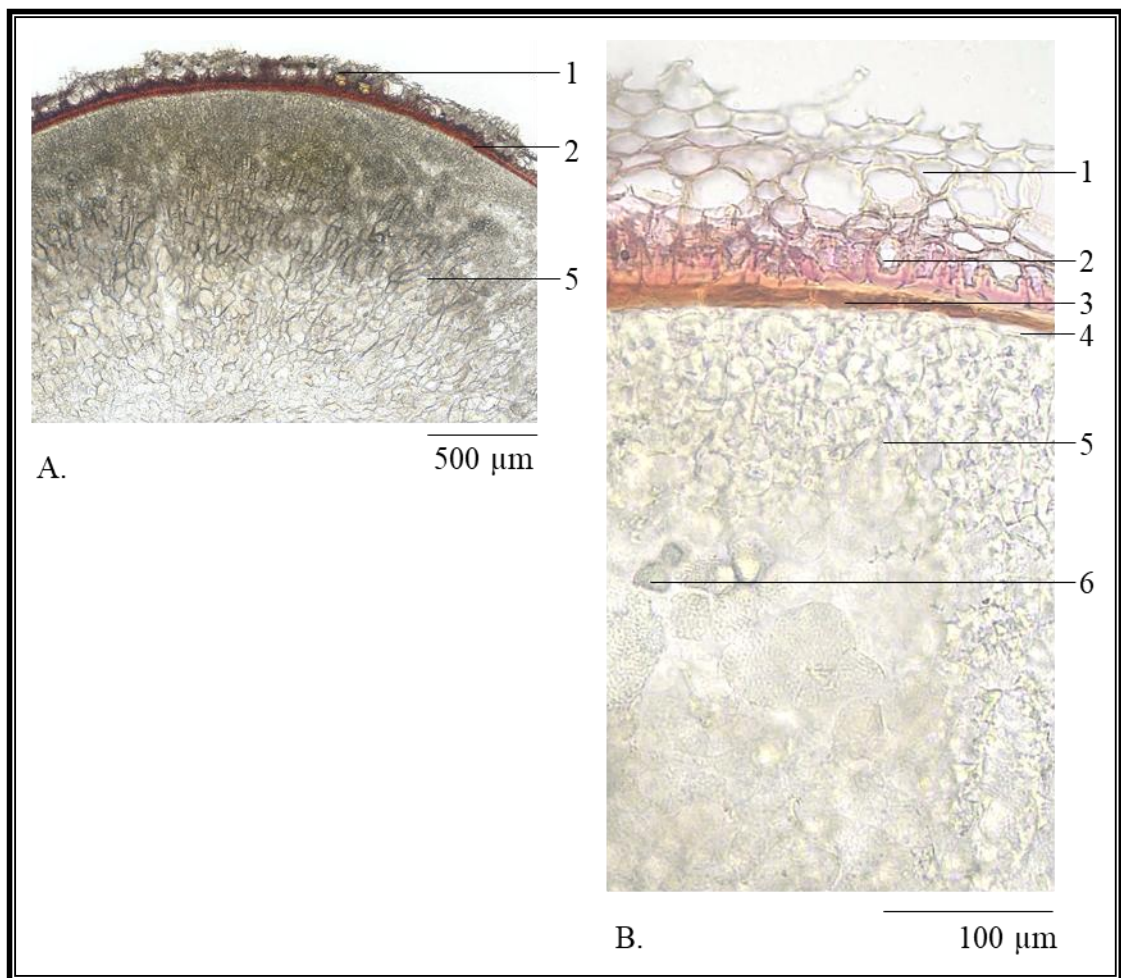


圖 2B 白胡椒橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖

- 1.中果皮細胞 2.內果皮石細胞層 3.棕色種皮 4.透明種皮 5.外胚乳
6.油滴

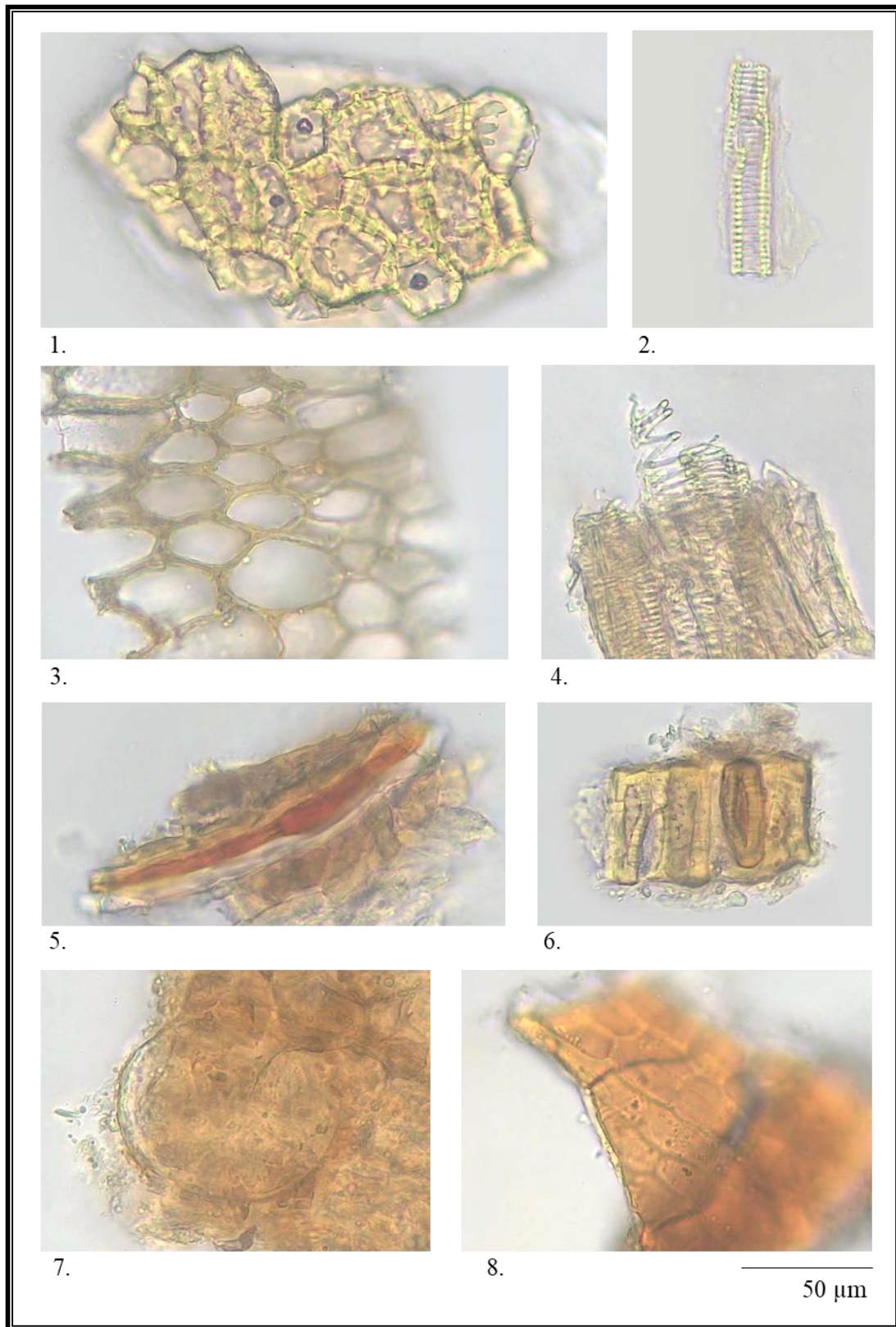


圖 3A 黑胡椒粉末顯微特徵圖

- 1.內果皮石細胞 2.螺紋導管 3.中果皮細胞 4.螺紋導管
5.種皮細胞側面觀 6.下皮石細胞 7.油細胞 8.種皮細胞表面觀

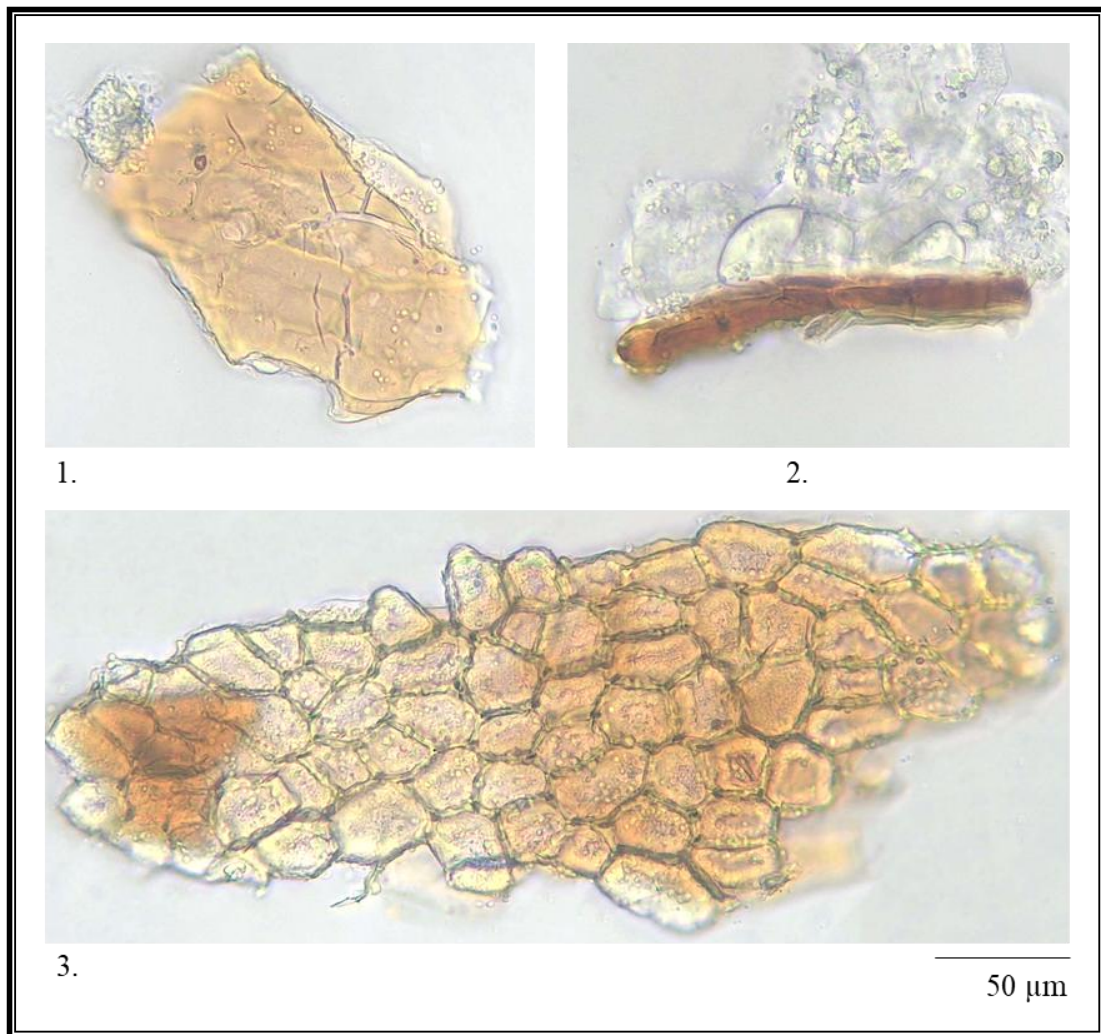


圖 3B 白胡椒粉末顯微特徵圖

1.種皮細胞表面觀 2.種皮細胞側面觀 3.內種皮石細胞

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。台北市：衛生福利部。219~221 頁。
2. 張永勳、何玉玲(總編輯)(2013)。臺灣中藥典圖鑑。台北市：衛生福利部。201 頁。
3. 行政院衛生署中醫藥委員會(1999)。中藥材品質管制：組織形態學鑑定。台北市：行政院衛生署中醫藥委員。83~84 頁。
4. 顏焜熒、蘇慶華、楊玲玲(1991)。中藥材之品質管制(I.型態學的評價篇)。行政院衛生署中醫藥委員會。135~136 頁。
5. 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。254 頁。
6. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。426~430 頁。
7. 國家藥典委員會(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑒別彩色圖鑒。人民衛生出版社。300 頁。
8. 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。436 頁。
9. 黃璐琦(總主編)(2020)。新編中國藥材學第六卷。中國醫藥科技出版社。107、328~332 頁。
10. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第三冊。廣東科技出版社。194 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。409 頁。

白胡椒(PIPERIS FRUCTUS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店白胡椒藥材共 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 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 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

甲醇(HPLC grade)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

胡椒鹼(Piperine)購置於普思生物科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末各 6 份，每份準確稱取約 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%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 4000 × g)，取上清液過濾 (Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得之胡椒鹼最大波峰面積為最佳白胡椒藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)各約 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加 75%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，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到胡椒鹼被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品胡椒鹼 4.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡椒鹼 400 µg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至胡椒鹼 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 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，濾液移入 50 mL 之容量瓶中，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 75%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

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胡椒鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取對照標準品胡椒鹼儲備溶液適量(400 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含胡椒鹼分別為 400、200、100、50、25、10 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

以胡椒鹼為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡椒鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售白胡椒藥材粉末，依白胡椒藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份白胡椒藥材檢品溶液，進樣測定，以胡椒鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售白胡椒藥材粉末，依白胡椒藥材檢品溶液製備方法製備白胡椒藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以胡椒鹼的波峰面積為指標，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

取已知胡椒鹼含量的白胡椒藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入胡椒鹼 4.0 mg，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 5C₁₈-AR- II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售白胡椒藥材含量測定

取 10 批市售白胡椒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 公式計算樣品中胡椒鹼的百分比含量。

(十三) 胡椒檢品之 UPLC 分析條件

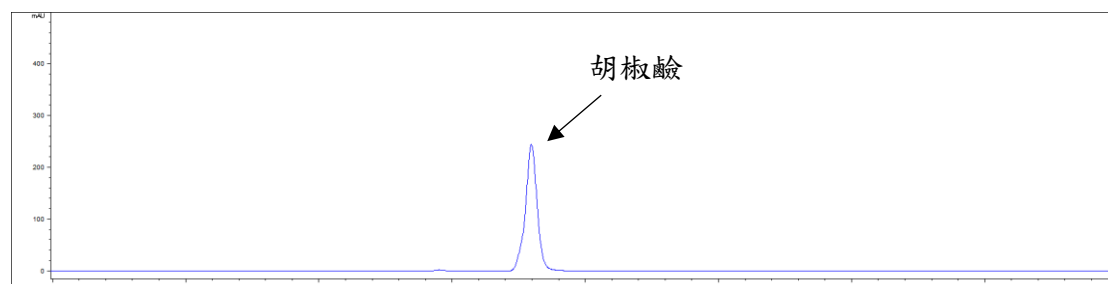
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	70	30
6	70	30

五、結果

(一) 對照標準品胡椒鹼之 HPLC 層析

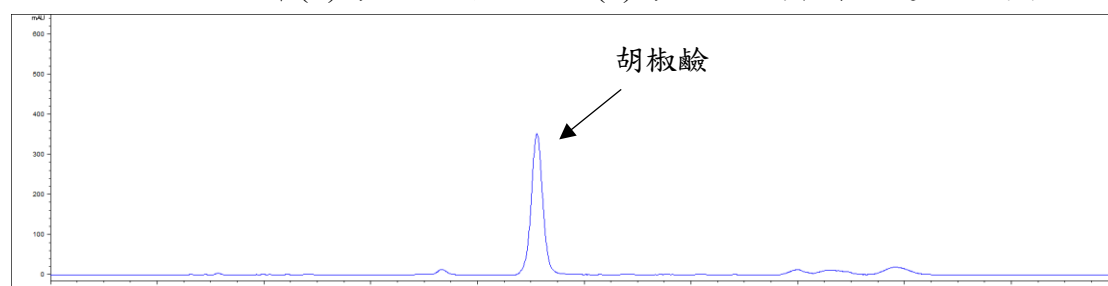
於滯留時間 8.98 分鐘處顯示胡椒鹼對照標準品波峰(圖一)。



圖一、胡椒鹼對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售白胡椒藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 9.10 分鐘處顯示胡白胡椒藥材檢品中胡椒鹼的波峰(圖二)。
胡椒鹼分離率(R)為 6.26，拖尾因子(T)為 0.95，均在系統適用性要求內。



圖二、市售白胡椒藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75%乙醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得胡椒鹼的波峰面積最大，顯示 75%乙醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	胡椒鹼波峰面積	最佳萃取
甲醇	12946.15	
75% 甲醇	13160.95	
50% 甲醇	12760.45	
乙醇	12903.30	
75% 乙醇	13180.05	√
50% 乙醇	12767.65	

(四) 最佳萃取次數評估

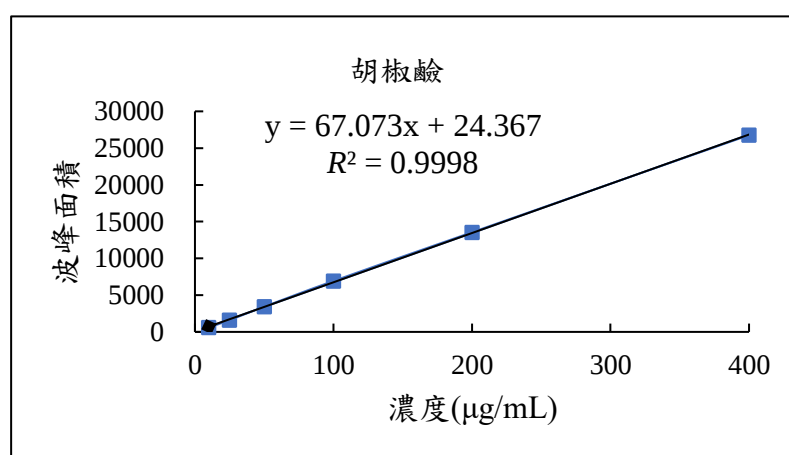
結果顯示萃取 2 次基本上已將胡椒鹼萃取完全(萃取率大於 98%) (表二)。

表二、白胡椒藥材檢品萃取次數評估

75%乙醇	胡椒鹼波峰面積
第 1 次	10871.35
第 2 次	237.85
第 3 次	57.30
第 4 次	N.D.

(五) 對照標準品胡椒鹼檢量線

經不同濃度胡椒鹼(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 $y = 67.073x + 24.367$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、胡椒鹼之檢量線圖

表三、胡椒鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
胡椒鹼	10–400	$y = 67.073x + 24.367$	0.9998

(六) 精密度試驗

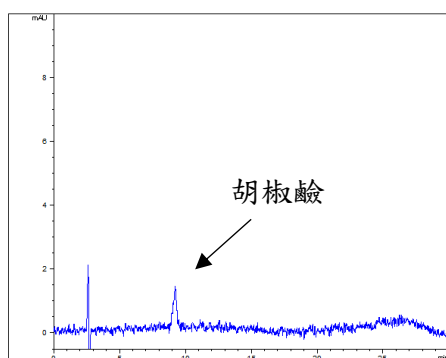
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，胡椒鹼精密度之相對標準差為 0.19%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

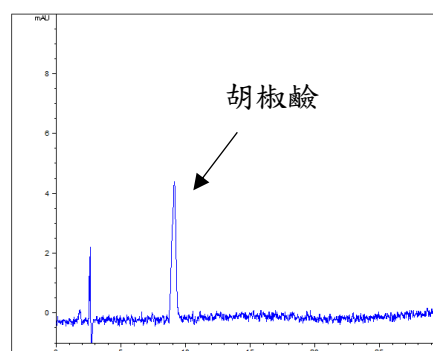
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，胡椒鹼重複性之相對標準差各為 1.27%，在系統適用性要求內。胡椒鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.47%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

胡椒鹼偵測極限為 0.5 µg/mL (圖四)，定量極限為 2.0 µg/mL (圖五)。



圖四、胡椒鹼之偵測極限層析圖



圖五、胡椒鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	胡椒鹼濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 µg/mL	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	1.27
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.2)	0.47
偵測極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	2.0 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

胡椒鹼平均添加回收率為 102.5%，相對標準偏差為 3.33% (表五)。

表五、胡椒鹼添加回收率

編號 (No.)	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	0.1002	4.0242	4.0	8.2091	104.84	102.46	3.33
2	0.1004	4.0323	4.0	8.2083	104.82		
3	0.1001	4.0202	4.0	8.2110	104.89		
4	0.1001	4.0202	4.0	8.0264	100.27		
5	0.1004	4.0323	4.0	7.9151	97.49		

(十) 臺灣市售白胡椒藥材含量測定

10 批白胡椒藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，胡椒鹼的含量為 3.552-4.016%，建議白胡椒藥材指標成分胡椒鹼的含量不得少於 3.3%。理論板數按胡椒鹼波峰計算應不低於 3000 (實際值為 10256)。

表六、臺灣市售白胡椒藥材檢品之胡椒鹼的含量

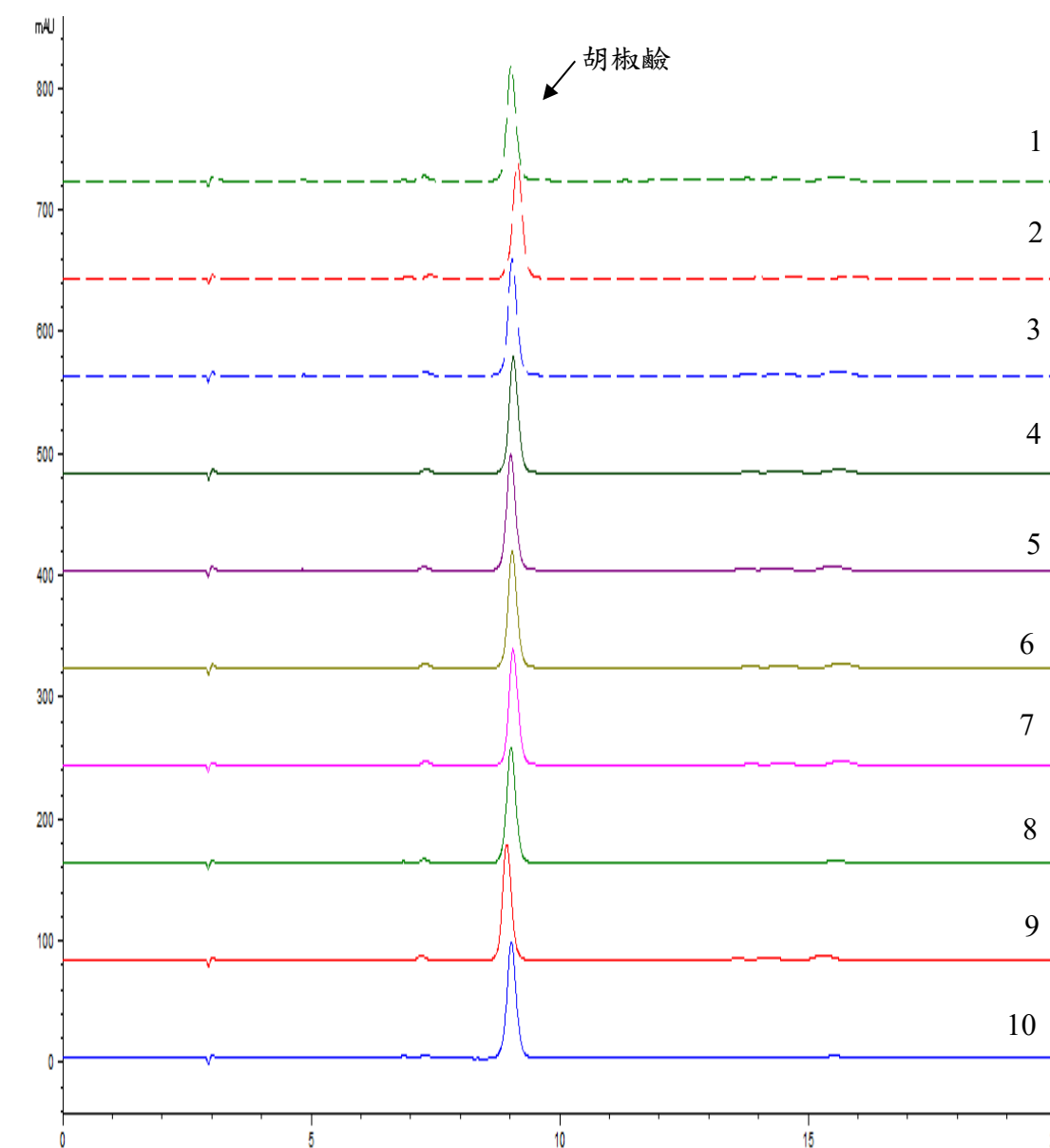
藥材編號(No.)	胡椒鹼含量(%)
1 (NC)	3.650
2 (NFB)	4.016
3 (NJB)	3.654
4 (NWB)	3.675
5 (CA)	3.552
6 (CH)	3.675
7 (SUA)	3.635
8 (SUB)	4.006
9 (SUC)	3.826
10 (SUD)	3.979
平均值±S.D.	3.767±0.175

(十一) 白胡椒藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

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

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR- II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

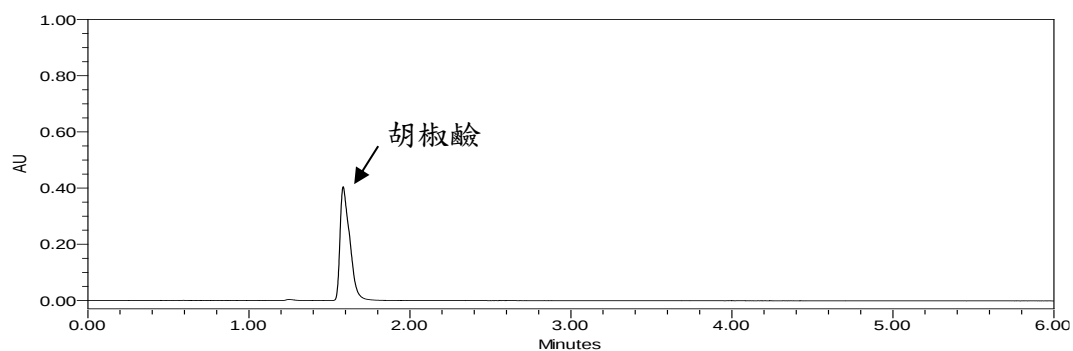
時間(min)	甲醇(%)	水(v/v, %)
0	70	30
30	70	30



圖六、10 批白胡椒藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品胡椒鹼之 UPLC 層析

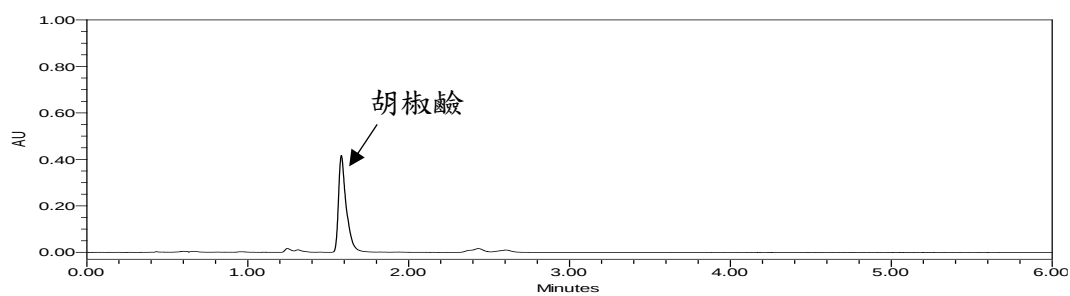
於滯留時間 1.58 分鐘處顯示胡椒鹼對照標準品波峰(圖七)。



圖七、胡椒鹼對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售白胡椒藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.58 分鐘處顯示白胡椒藥材檢品中胡椒鹼波峰(圖八)。



圖八、市售白胡椒藥材檢品之 UPLC 層析圖

黑胡椒(PIPERIS FRUCTUS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店黑胡椒藥材共 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 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 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

甲醇(HPLC grade)購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

胡椒鹼(Piperine)購置於普思生物科技有限公司，純度 98%以上。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末各 6 份，每份準確稱取約 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%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 4000 × g)，取上清液過濾 (Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之胡椒鹼最大波峰面積為最佳黑胡椒藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)各約 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 20 mL 之容量瓶中，加 75%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，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到胡椒鹼被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品胡椒鹼 4.0 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含胡椒鹼 400 µg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至胡椒鹼 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 0.1 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 75%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 × g)，以 No.1 濾紙過濾，濾液移入 50 mL 之容量瓶中，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 75%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 µm)，即得。

(五) 測定法

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胡椒鹼的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取對照標準品胡椒鹼儲備溶液適量(400 µg/mL)，以甲醇稀釋製成含胡椒鹼分別為 400、200、100、50、25、10 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

以胡椒鹼為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以胡椒鹼的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售黑胡椒藥材粉末，依黑胡椒藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份胡椒藥材檢品溶液，進樣測定，以胡椒鹼的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售黑胡椒藥材粉末，依黑胡椒藥材檢品溶液製備方法製備黑胡椒藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以胡椒鹼的波峰面積為指標，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

取已知胡椒鹼含量的黑胡椒藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.1 g，分別加入胡椒鹼 4.0 mg，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 5C₁₈-AR- II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	70	30
30	70	30

(十二) 臺灣市售胡椒藥材含量測定

取 10 批市售黑胡椒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 公式計算樣品中胡椒鹼的百分比含量。

(十三) 胡椒檢品之 UPLC 分析條件

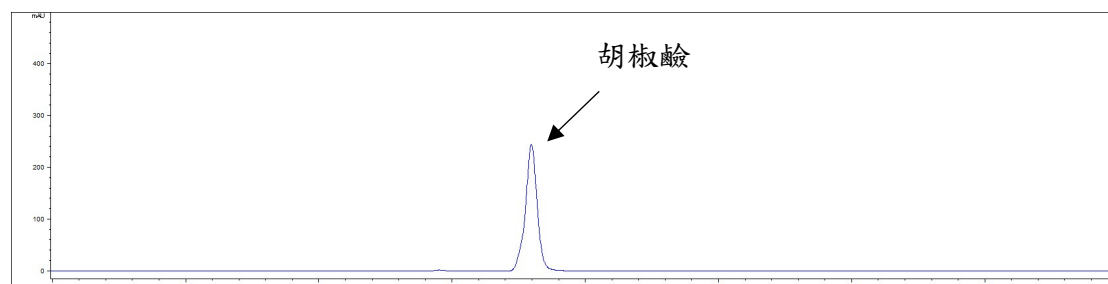
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	70	30
6	70	30

五、結果

(一) 對照標準品胡椒鹼之 HPLC 層析

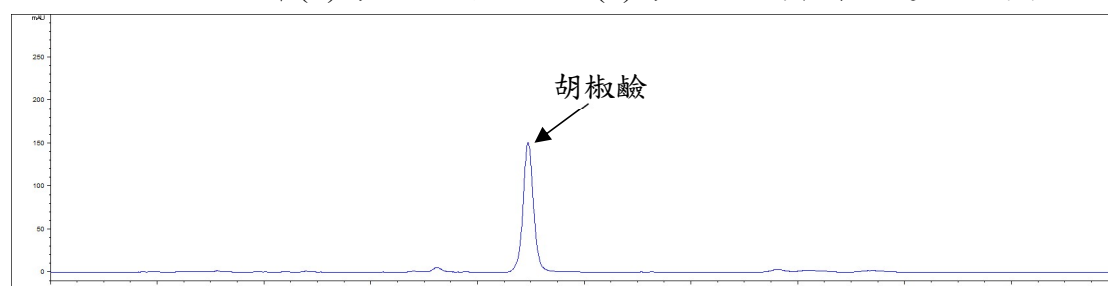
於滯留時間 8.98 分鐘處顯示胡椒鹼對照標準品波峰(圖一)。



圖一、胡椒鹼對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售黑胡椒藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 8.94 分鐘處顯示胡黑胡椒藥材檢品中胡椒鹼的波峰(圖二)。
胡椒鹼分離率(R)為 5.05，拖尾因子(T)為 0.96，均在系統適用性要求內。



圖二、市售黑胡椒藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 75%乙醇溶液為溶媒時，每克藥材重量所得胡椒鹼的波峰面積最大，顯示 75%乙醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	胡椒鹼波峰面積	最佳萃取
甲醇	11231.35	
75%甲醇	11071.90	
50%甲醇	10891.90	
乙醇	10742.45	
75%乙醇	11308.55	√
50%乙醇	11086.80	

(四) 最佳萃取次數評估

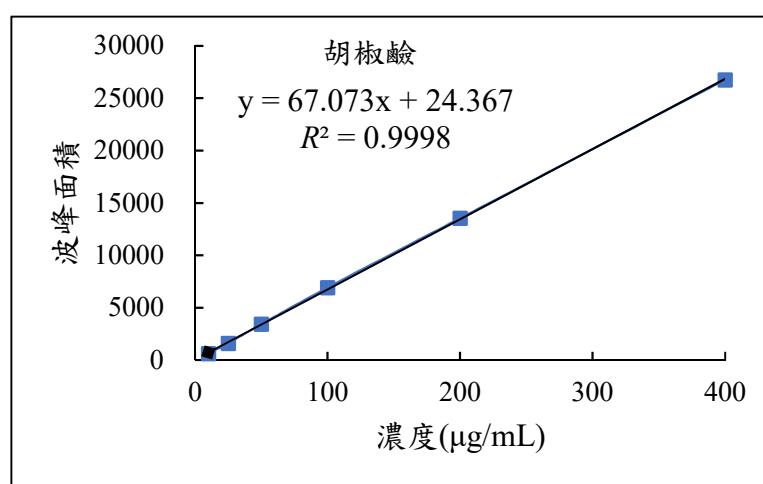
結果顯示萃取 2 次基本上已將胡椒鹼萃取完全(萃取率大於 98%) (表二)。

表二、黑胡椒藥材檢品萃取次數評估

75%乙醇	胡椒鹼波峰面積
第 1 次	9347.50
第 2 次	308.70
第 3 次	52.45
第 4 次	N.D.

(五) 對照標準品胡椒鹼檢量線

經不同濃度胡椒鹼(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 $y = 67.073x + 24.367$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 10–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、胡椒鹼之檢量線圖

表三、胡椒鹼之檢量線方程式

對照標準品	濃度(μg/mL)	線性回歸方程式	R^2
胡椒鹼	10–400	$y = 67.073x + 24.367$	0.9998

(六) 精密度試驗

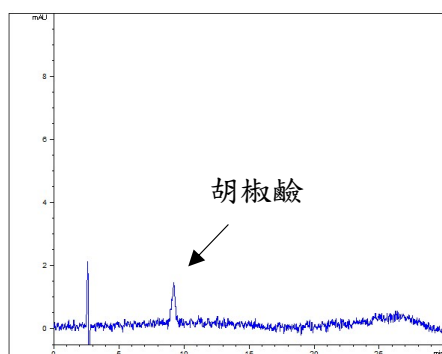
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，胡椒鹼精密度之相對標準差為 0.19%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

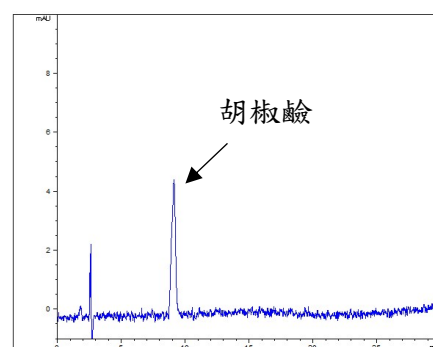
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，胡椒鹼重複性之相對標準差各為 2.20%，在系統適用性要求內。胡椒鹼在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.27%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

胡椒鹼偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、胡椒鹼之偵測極限層析圖



圖五、胡椒鹼之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	胡椒鹼濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.19
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	2.20
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.3)	0.27
偵測極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	2.0 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

胡椒鹼平均添加回收率為 105.1%，相對標準偏差為 1.23% (表五)。

表五、胡椒鹼添加回收率

編號 (No.)	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	0.1006	4.0403	4.0	8.1620	103.65	105.13	1.23
2	0.1003	4.0282	4.0	8.2846	106.71		
3	0.1005	4.0363	4.0	8.2064	104.76		
4	0.1001	4.0242	4.0	8.2656	106.23		
5	0.1004	4.0323	4.0	8.1889	104.32		

(十) 臺灣市售黑胡椒藥材含量測定

10 批黑胡椒藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，胡椒鹼的含量為 2.929–4.055%，建議黑胡椒藥材指標成分胡椒鹼的含量不得少於 3.3%。理論板數按胡椒鹼波峰計算應不低於 3000 (實際值為 10183)。

表六、臺灣市售黑胡椒藥材檢品之胡椒鹼的含量

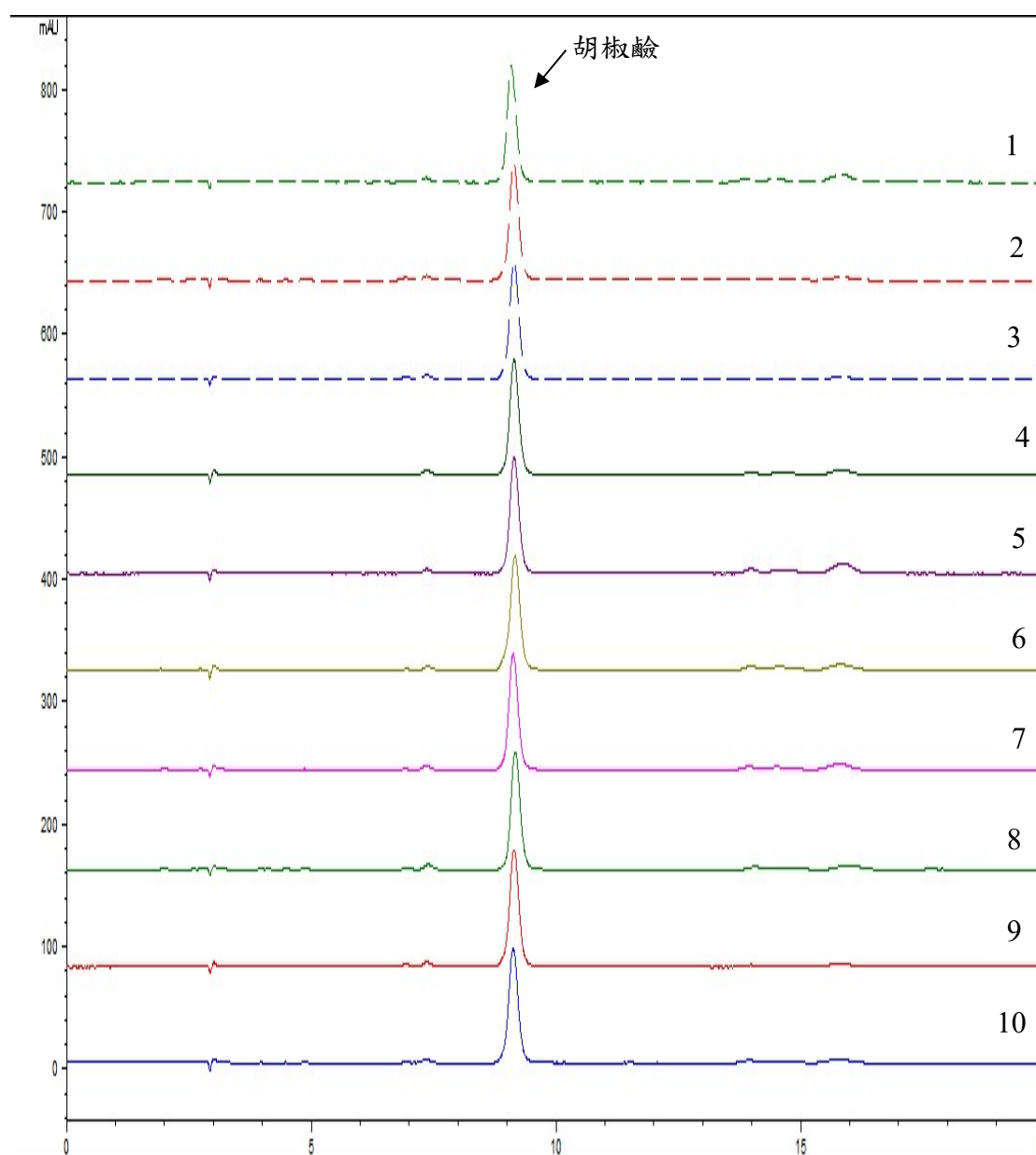
藥材編號(No.)	胡椒鹼含量(%)
1 (NC)	3.208
2 (NFA)	3.337
3 (NJA)	4.016
4 (NRA-1)	2.855
5 (NWB)	3.000
6 (NX)	2.761
7 (CB)	3.068
8 (CE)	4.055
9 (SUB)	3.681
10 (SUD)	2.929
平均值±S.D.	3.291±0.472

(十一) 黑胡椒藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售黑胡椒藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C₁₈-AR- II Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 343 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：25 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

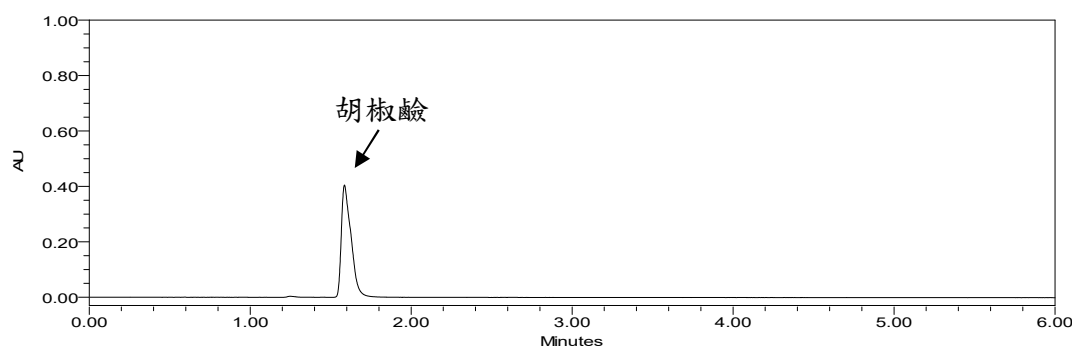
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	70	30
30	70	30



圖六、10 批黑胡椒藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品胡椒鹼之 UPLC 層析

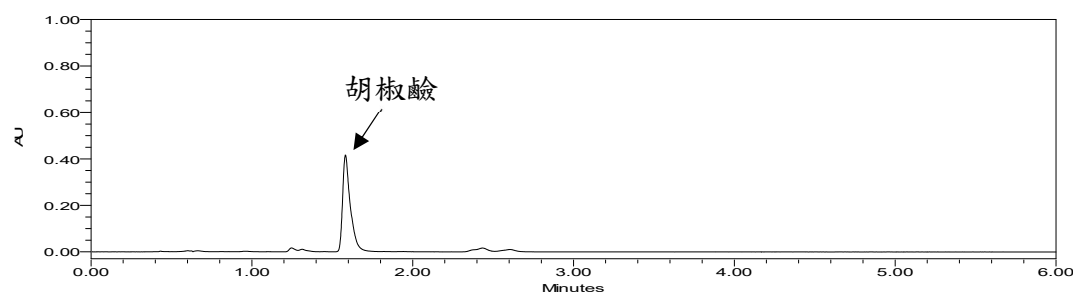
於滯留時間 1.58 分鐘處顯示胡椒鹼對照標準品波峰(圖七)。



圖七、胡椒鹼對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售黑胡椒藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.58 分鐘處顯示黑胡椒藥材檢品中胡椒鹼波峰(圖八)。

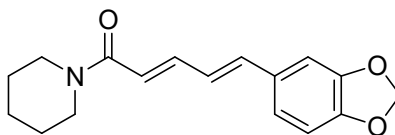


圖八、市售黑胡椒藥材檢品之 UPLC 層析圖

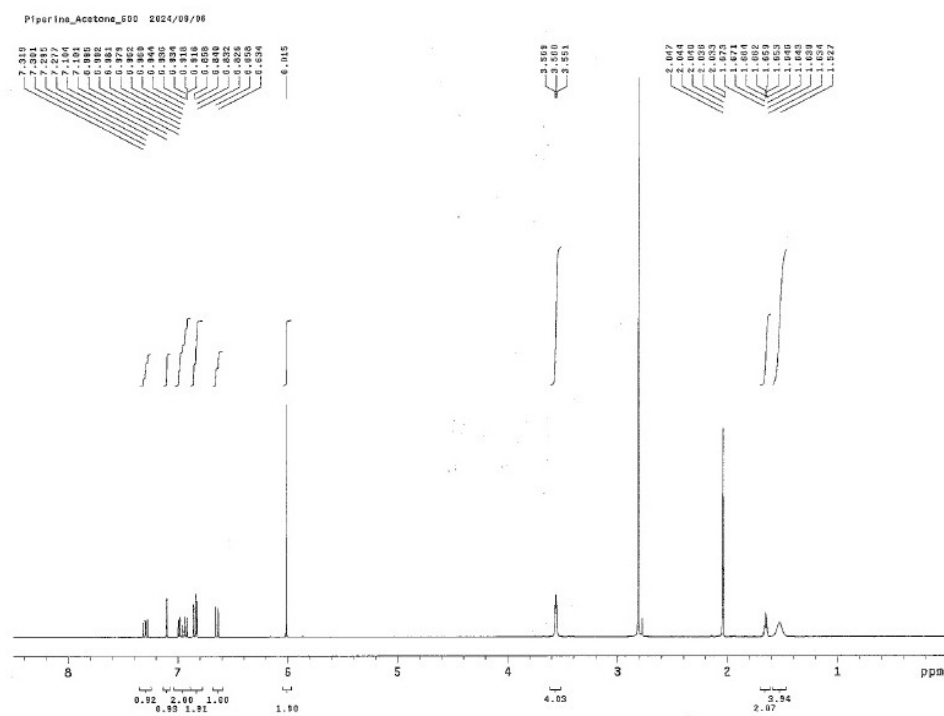
(十四) 胡椒鹼的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{17}H_{19}NO_3$ ；分子量：285.34；熔點：128–130 °C；白色粉末。

(十五) 胡椒鹼的結構

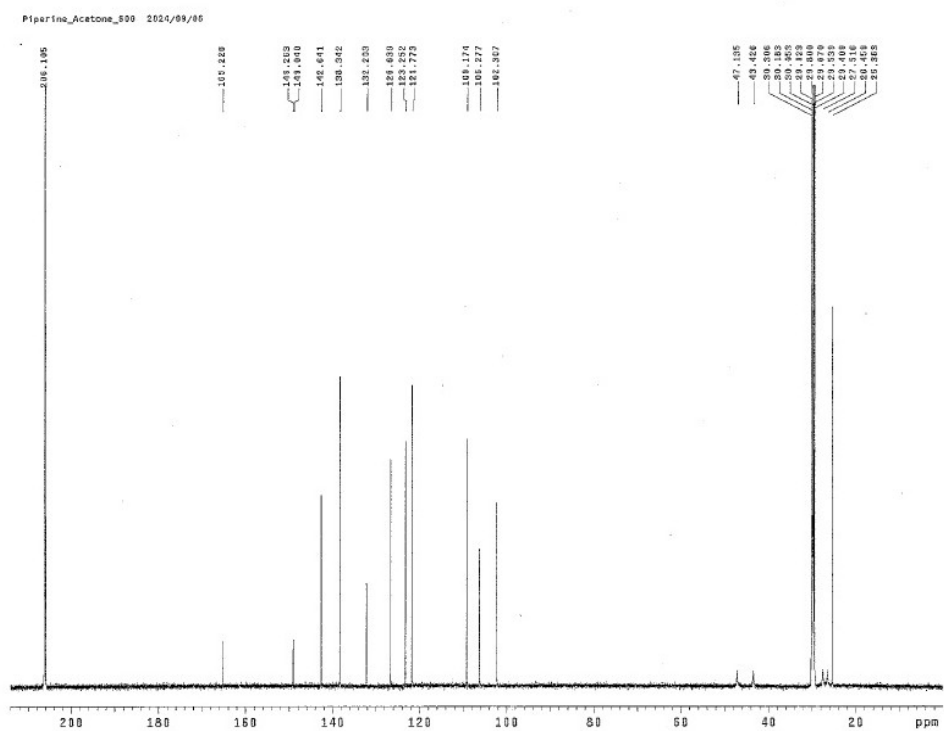


(十六) 胡椒鹼的 ^1H NMR 圖譜



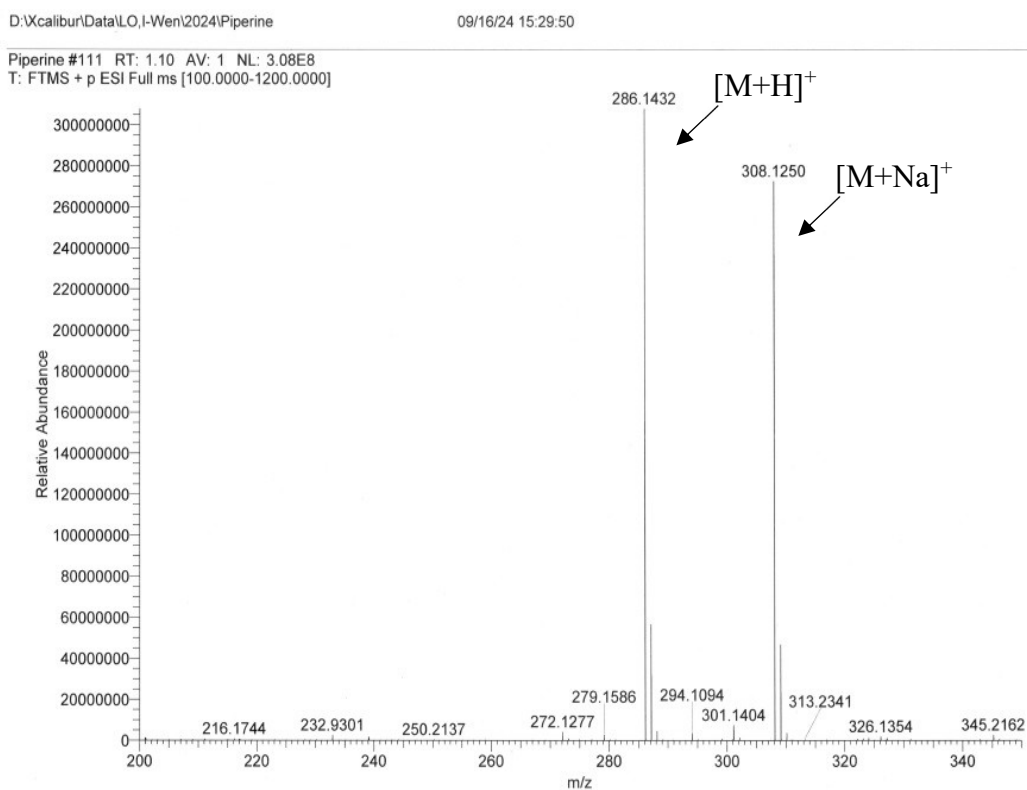
圖十二、胡椒鹼的 ^1H NMR 圖譜(acetone- d_6)

(十七) 胡椒鹼的 ^{13}C NMR 圖譜



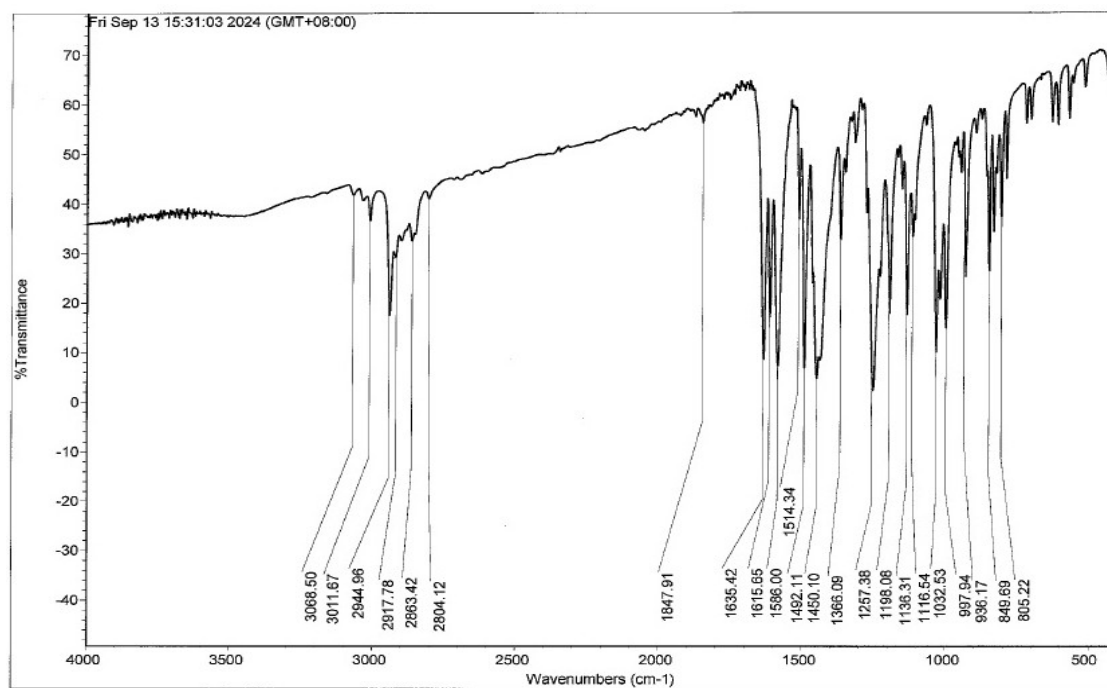
圖十三、胡椒鹼的 ^{13}C NMR 圖譜(acetone- d_6)

(十八) 胡椒鹼的 ESI-MS 圖譜



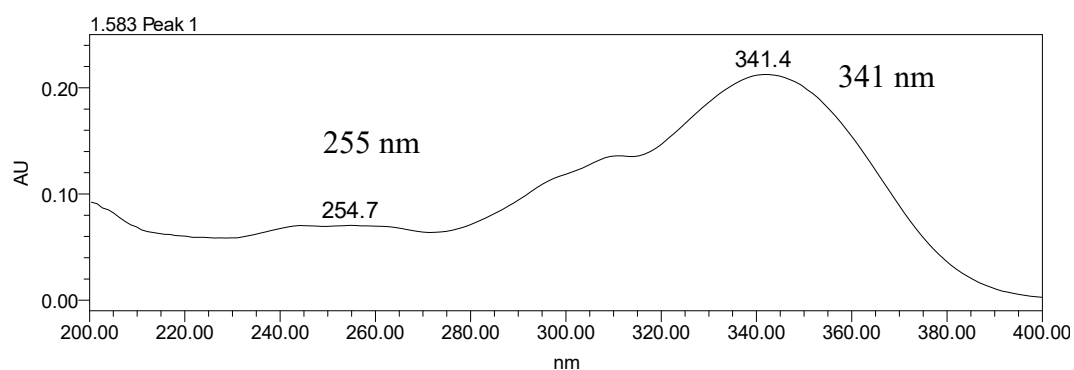
圖十四、胡椒鹼的 ESI-MS 圖譜

(十九) 胡椒鹼的 FTIR 圖譜



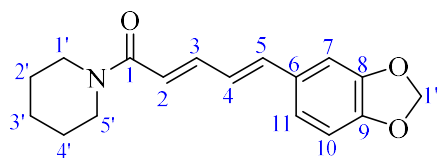
圖十五、胡椒鹼的 FTIR 圖譜

(二十) 胡椒鹼的 UV 圖譜



圖十六、胡椒鹼的 UV 圖譜

(二十一) 胡椒鹼的氫、碳化學位移



胡椒鹼

表七、胡椒鹼的氫、碳化學位移(Acetone- d_6)

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
1	—	165.3
2	6.66 (dt, 0.8, 14.6)	121.8
3	7.31 (ddd, 0.6, 10.9, 14.6)	142.7
4	6.95 (ddd, 0.8, 10.9, 15.6)	126.7
5	6.86 (m)	138.4
6	—	132.2
7	7.11 (d, 1.7)	106.3
8	—	149.3
9	—	149.1
10	6.84 (d, 8.0)	109.2
11	7.00 (ddd, 0.5, 1.7, 8.0)	123.3
1',5'	3.57 (t, 5.6)	47.2
2',4'	1.54 (s)	27.6
3'	1.66 (m)	25.4
1''	6.02 (s)	102.3

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

胡椒

生藥名：PIPERIS FRUCTUS

英文名：Pepper

基 原：本品為胡椒科 Piperaceae 植物胡椒 *Piper nigrum* L.之乾燥接近成熟或成熟果實。

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 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】《中華人民共和國藥典 2020》，《香港中藥材標準第八冊》

——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 10 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 取胡椒鹼(Piperine)對照標準品，放入棕色瓶中，加無水乙醇製成每 1 mL 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】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》

——甲苯：乙酸乙酯：丙酮 (7：2：1)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》✓

——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

(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 風乾後，於紫外光(254 nm)照射下檢視之，或以 10%硫酸/乙醇試液(H₂SO₄/EtOH TS)噴霧後，105 °C加熱至條帶顯色清晰，於紫外光 365 nm) 照射下檢視。。

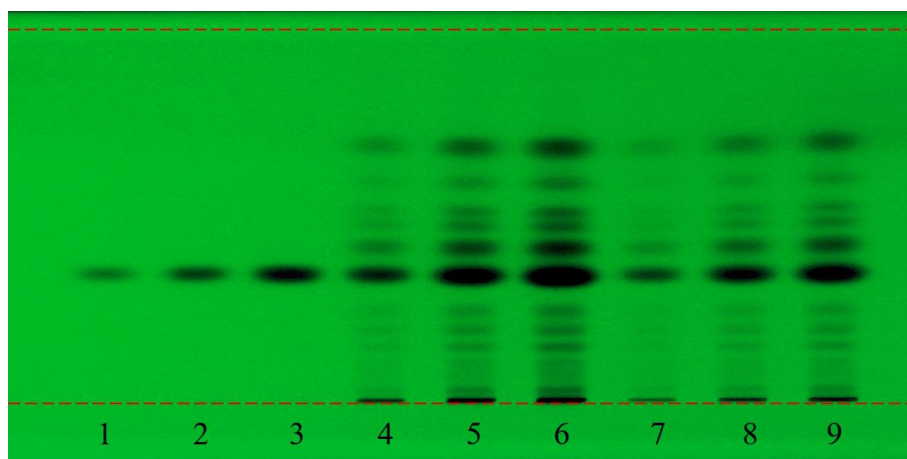
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：113/11/13

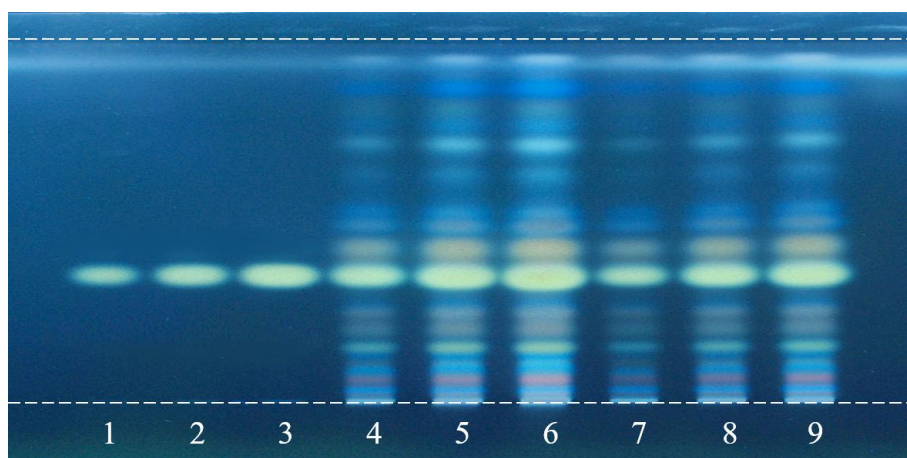
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：23.9 °C

【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



編號	名稱	點注量
1, 2, 3	胡椒鹼(1.0 mg/mL)	1, 2, 5 μ L
4, 5, 6	檢品溶液 4 【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
7, 8, 9	檢品溶液 4 【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：2 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出胡椒鹼，因濃度適中，故採用《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】。

建議點注量：胡椒鹼 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

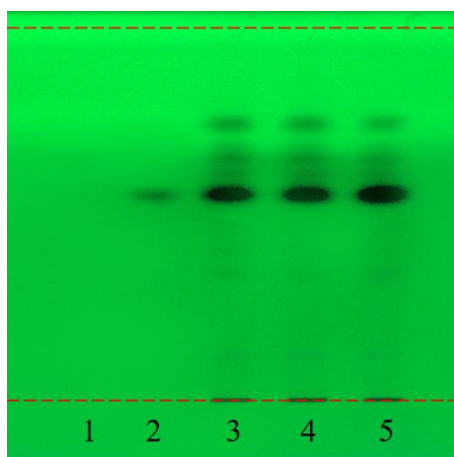
實驗日期：113/11/13

相對溼度(RH)：66%

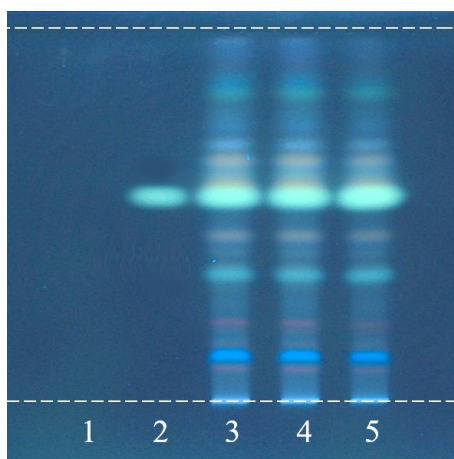
溫度(RT)：23.9 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》，《中華人民共和國藥典 2020》——甲苯：乙酸乙酯：丙酮 (7：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡椒鹼 R_f 值為 0.55)



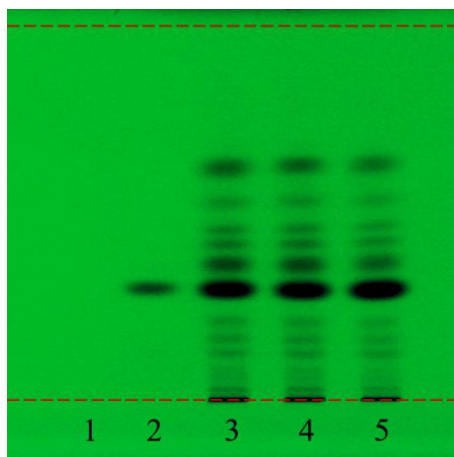
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(胡椒鹼 R_f 值為 0.55)



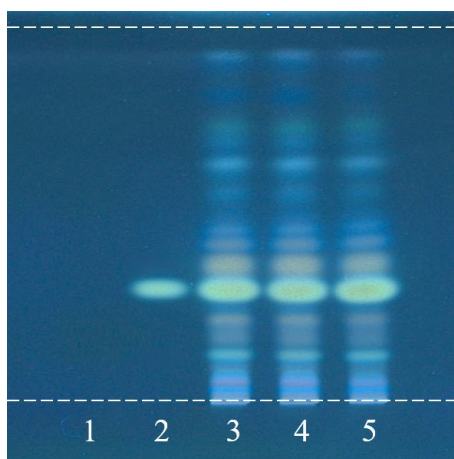
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(胡椒鹼 R_f 值為 0.31)



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(胡椒鹼 R_f 值為 0.31)



1：Blank
2：胡椒鹼
3，4：檢品溶液
5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以《香港中藥材標準》之【展開劑 2】展開胡椒鹼之 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：113/11/13

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：23.9 °C

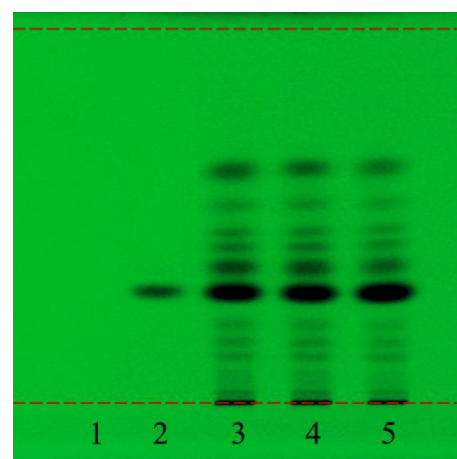
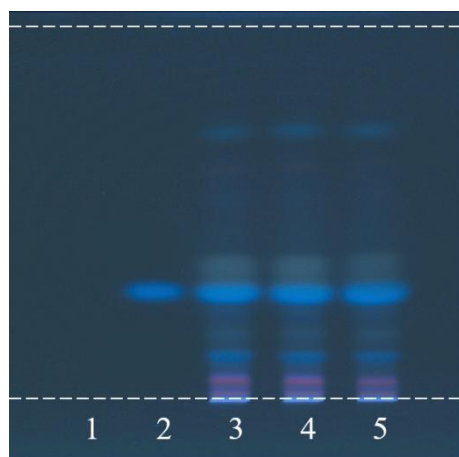
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 紫外光(365 nm)檢出

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓

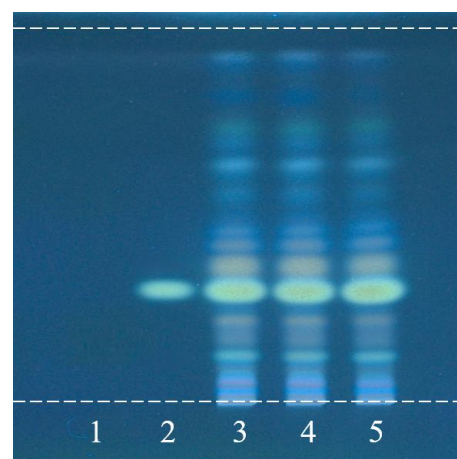
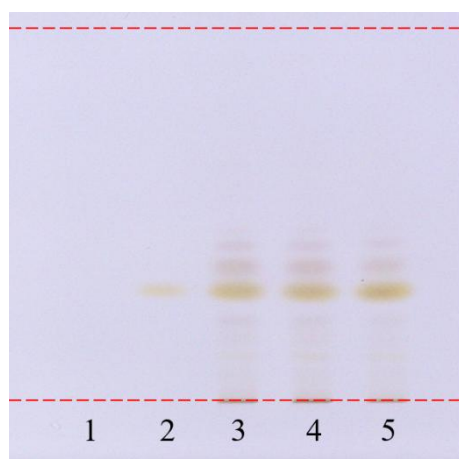


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見
光檢出

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後
紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 4

2：胡椒鹼

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)或以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)檢視，顯示有較多且較明顯分離之條帶。

五、十批黑胡椒藥材樣品檢測

實驗日期：113/11/13

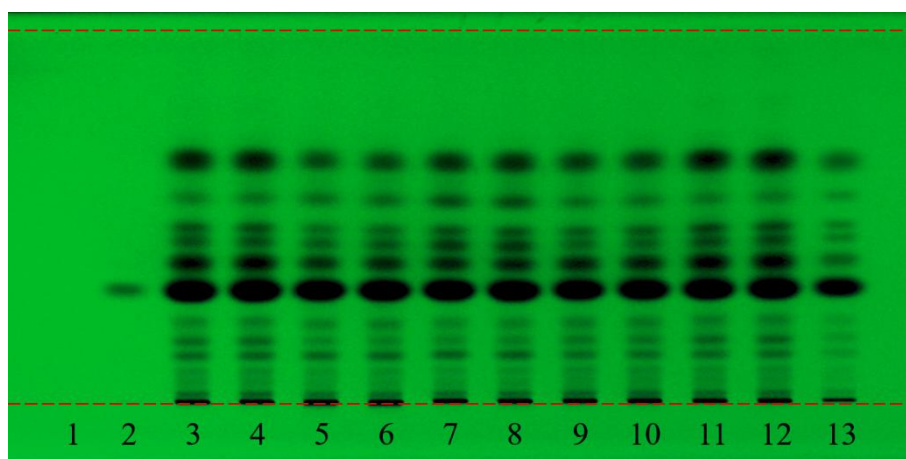
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：23.9 °C

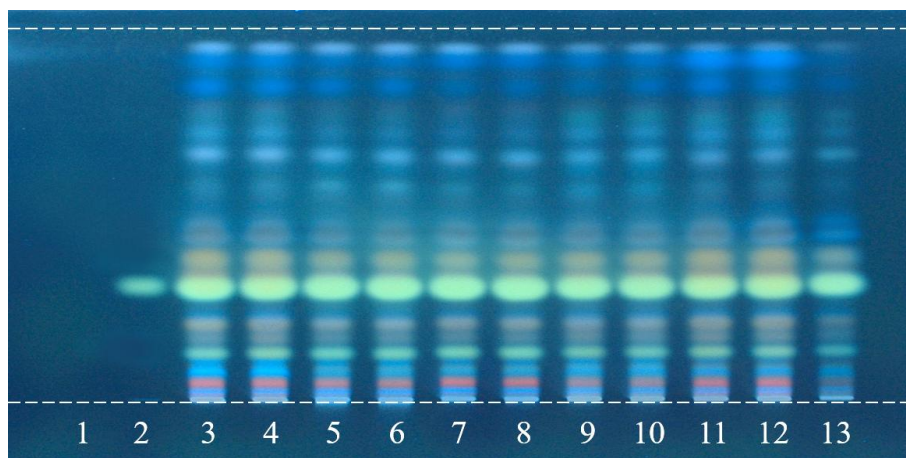
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

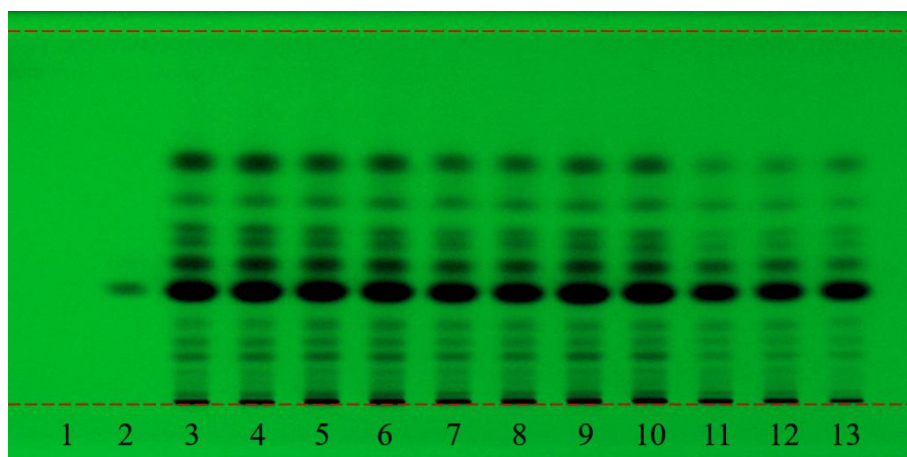


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NJA)
2	胡椒鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NRA1)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)	11, 12	檢品溶液 5 (NWB)
5, 6	檢品溶液 2 (NFA)	13	Spike (檢品溶液 4)

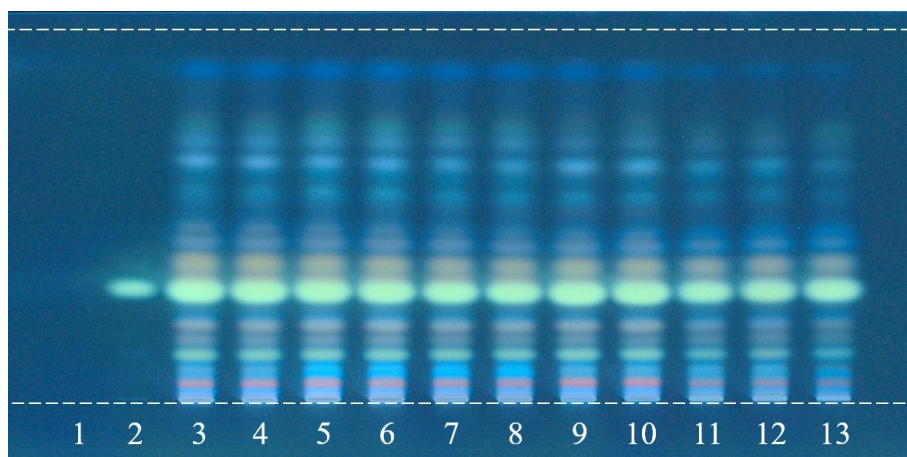
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (CE)
2	胡椒鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUB)
3, 4	檢品溶液 6 (NX)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (CB)	13	Spike (檢品溶液 4)

五、十批白胡椒藥材樣品檢測

實驗日期：113/11/13

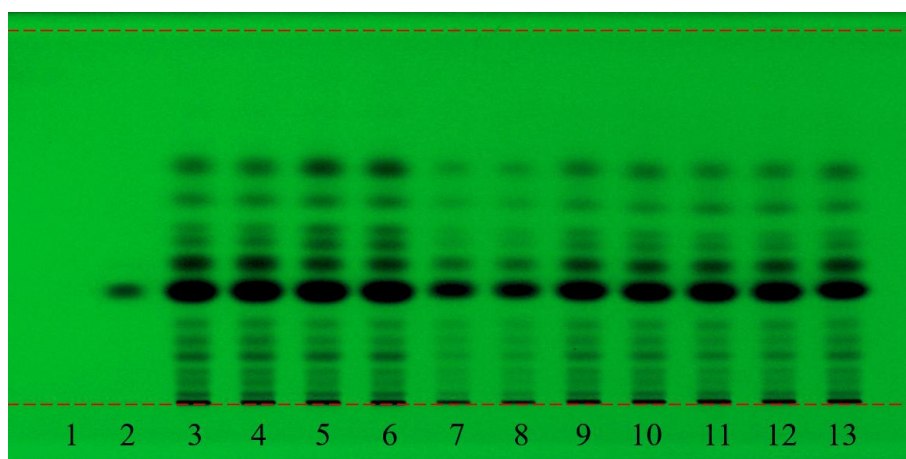
相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：23.9 °C

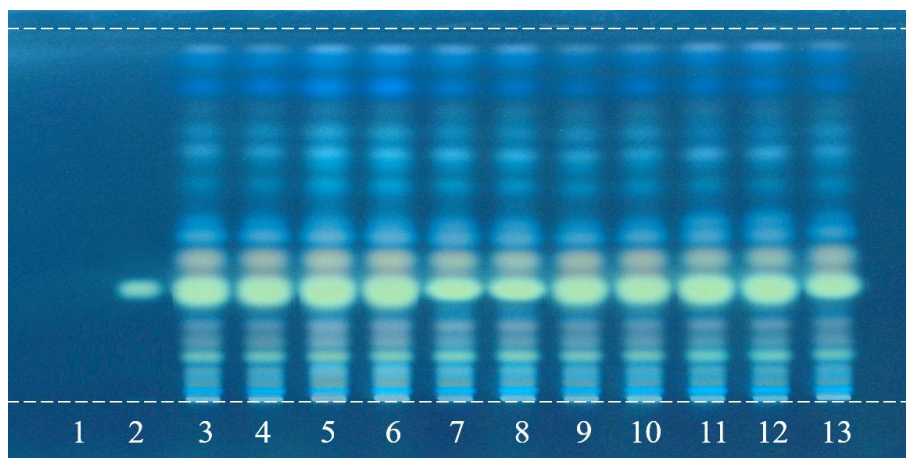
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

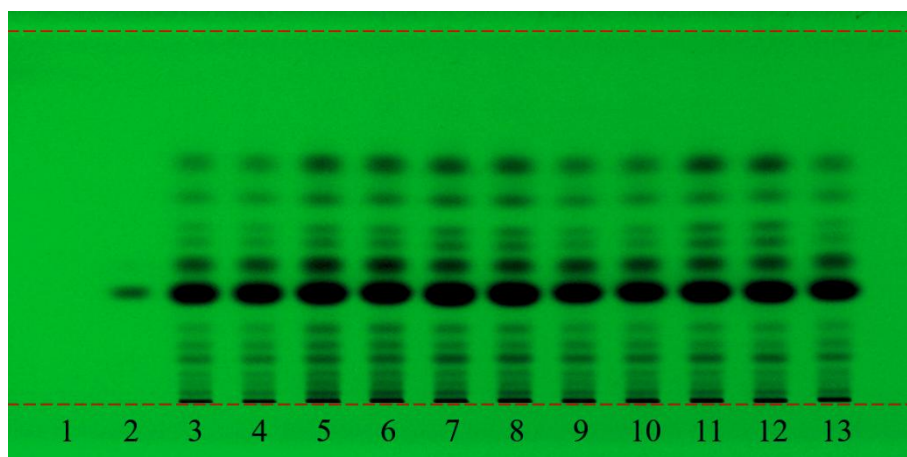


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NJB)
2	胡椒鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NWB)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)	11, 12	檢品溶液 5 (CA)
5, 6	檢品溶液 2 (NFB)	13	Spike (檢品溶液 4)

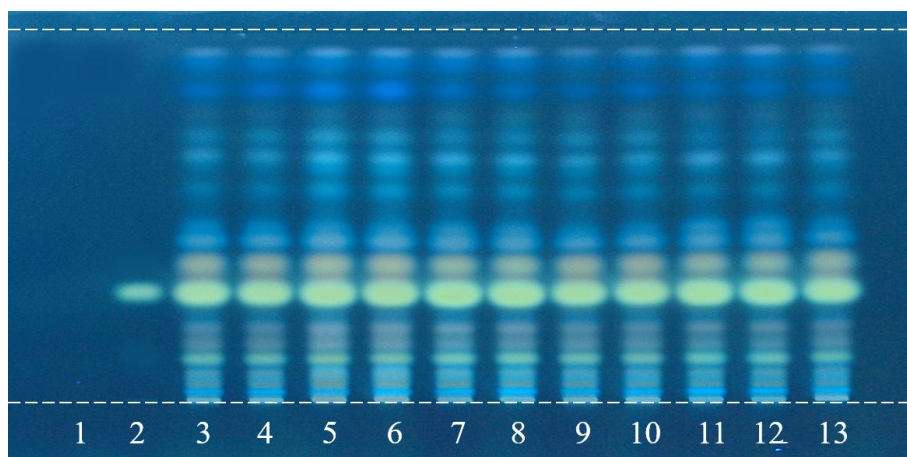
【展開劑 2】《香港中藥材標準第八冊》——正己烷：乙酸乙酯：丙酮 (8：4：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SUB)
2	胡椒鹼(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUC)
3, 4	檢品溶液 6 (CH)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (SUA)	13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】方式及《香港中藥材標準》之【展開劑 2】分離與檢出胡椒鹼較佳，於紫外光(254 nm)或以 10%硫酸/乙醇顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。