

豬苓

(POLYPORUS)

豬苓 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
豬苓 HPLC (藥材)	7
一、材料	7
二、儀器及層析管柱	7
三、實驗藥品及試劑來源	7
四、方法	7
五、結果	10
豬苓 TLC (藥材)	20
一、方法	20
二、萃法選擇及濃度測試	21
三、溶媒系統選擇	22
四、觀察方式選擇	25
五、十批豬苓藥材樣品檢測	27
豬苓 HPLC (飲片)	29
一、材料	29
二、儀器及層析管柱	29
三、實驗藥品及試劑來源	29
四、方法	29
五、結果	32
豬苓 TLC (飲片)	36
一、方法	36
二、萃法選擇及濃度測試	37
三、溶媒系統選擇	38
四、觀察方式選擇	41
五、十批豬苓飲片樣品檢測	43

豬苓

(POLYPORUS)

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豬苓的乾燥菌核。

二、藥材性狀描述(圖 1)

藥材名：豬苓

生藥名：POLYPORUS

英文名：Agaric

基原：本品為多孔菌科 Polyporaceae 真菌豬苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr.之乾燥菌核。

採收加工：春、秋二季採挖，除去泥沙，乾燥。

藥材性狀：本品呈不規則條形、類圓形或扁塊狀，有的有分枝，長 5~25 cm，直徑 2~6 cm。表面黑色、灰黑色或棕黑色，皺縮或有瘤狀突起。體輕，質硬。斷面類白色或黃白色，略呈顆粒狀，略帶彈性。氣微，味淡。

飲片性狀：本品呈類圓形或不規則形厚片。外表皮黑色或棕黑色，皺縮。切面類白色或黃白色，略呈顆粒狀，按之略帶彈性。氣微，味淡。

生長分佈：為菌絲特化形成的菌核，埋於土壤中，生於楓、樺、槭、橡樹等闊葉林植被的根上。喜陰涼、濕潤氣候，忌乾旱，以富含腐植質的土壤為宜。中國各地皆有分布，藥材主產於陝西、甘肅、山西、河北等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 本品全體由菌絲緊密交織而成。
2. 外層菌絲厚 27~54 μm ，棕色，不易分離。
3. 內層菌絲無色，彎曲，直徑 2~18 μm ，有的可見橫隔，有分支或結節狀膨大。
4. 菌絲間散有眾多草酸鈣方晶。大多呈正方八面體形、規則八面體形或不規則多面體、雙錐體、長柱體，直徑 3~35 μm ，長可達 65 μm ，有時數個結晶集合。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末黃白色。
2. 菌絲散布或黏結成團塊。大多無色，少數黃棕色，直徑 $2\sim 18\mu\text{m}$ ，有的有分支或呈結節狀膨大。
3. 草酸鈣方晶常破碎，完整者大多呈正方八面體形、規則八面體形或不規則多面體、雙錐體、長柱體，直徑 $3\sim 35\mu\text{m}$ ，長可達 $65\mu\text{m}$ 。偏光顯微鏡下呈多彩色。

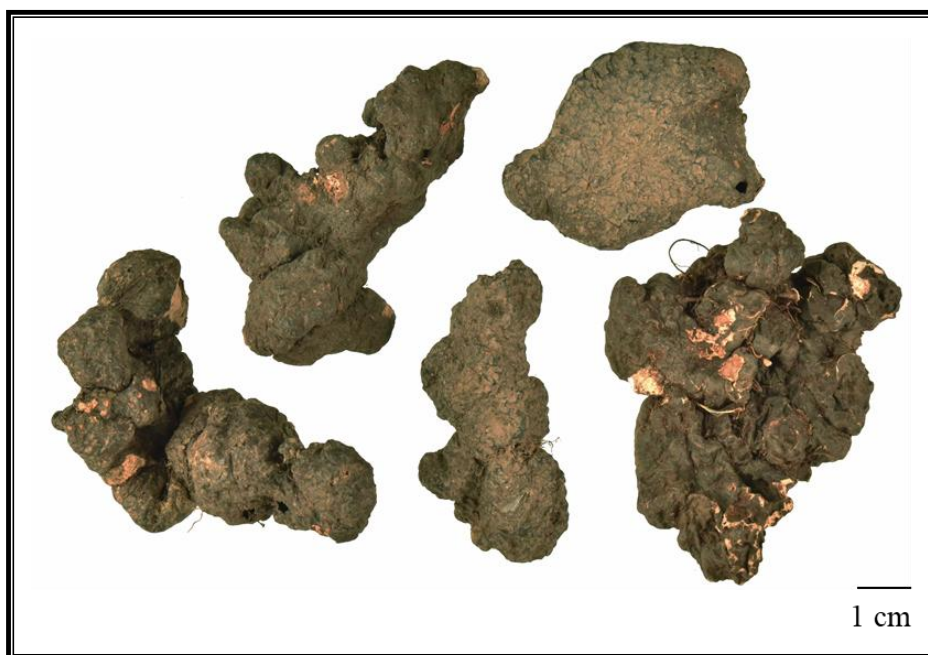


圖 1A 豬苓藥材圖



圖 1B 豬苓飲片藥材圖

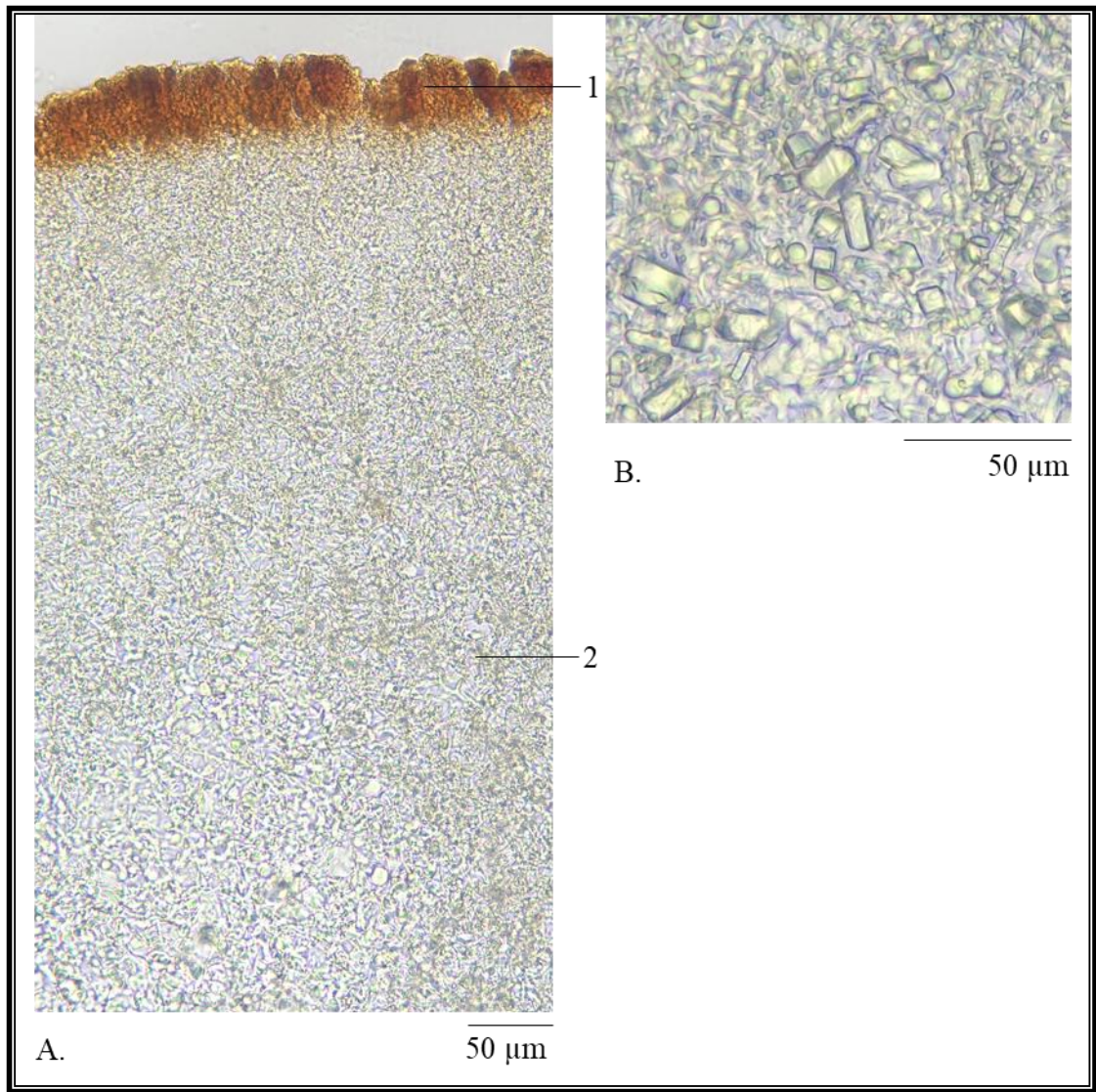


圖 2 豬苓菌核橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.草酸鈣方晶

1.棕色菌絲 2.菌絲

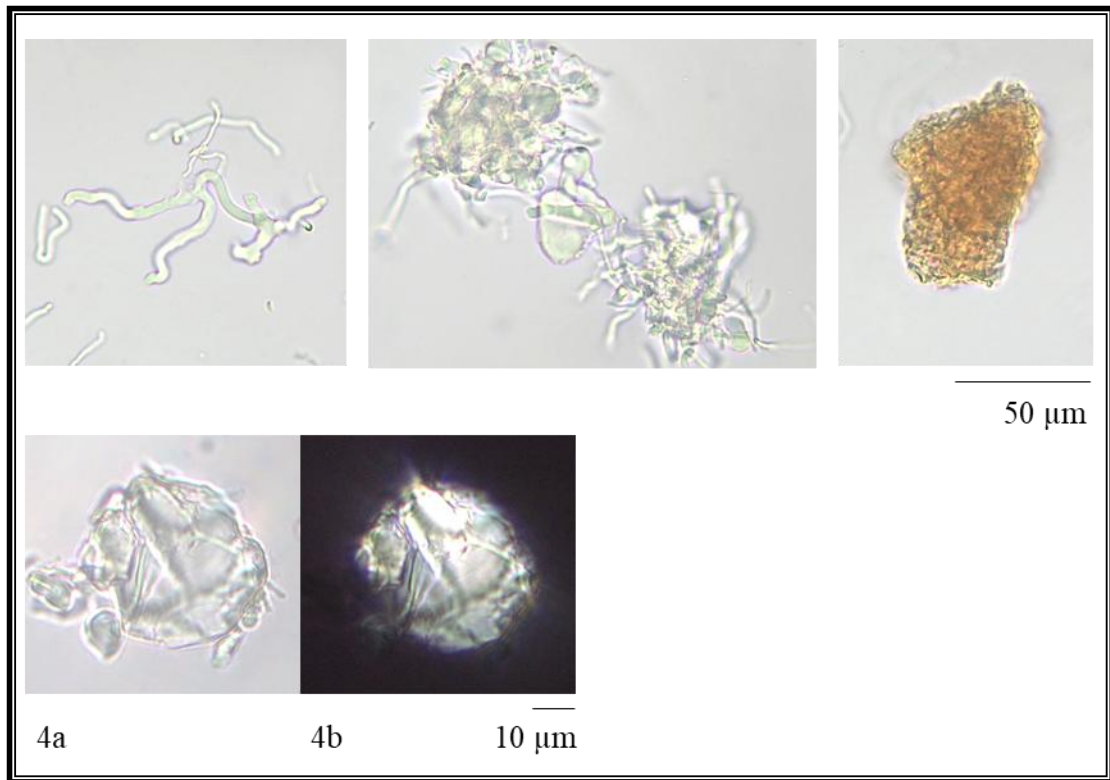


圖 3 豬苓粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.菌絲 2.菌絲團塊 3.棕色菌絲團塊 4.草酸鈣方晶

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。397頁。
2. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部(2015)。香港中藥材標準第七冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。393~402頁。
3. 國家藥典委員會(2020)。中華人民共和國藥典 2020 版。北京：中國醫藥科技出版社。331~332 頁。
4. 黃璐琦主編(2020)。新編中國藥材學第二卷。北京：中國醫藥科技出版社。310~313 頁。
5. 肖培根主編(2002)。新編中藥志第三卷。北京：化學工業出版社。902~905 頁。
6. 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。574 頁。
7. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。536~537 頁。
8. 中國藥品生物製品檢定所、廣東省藥品檢驗所(1999)。中國中藥材真偽鑑別圖典 4。廣東科技出版社。221 頁。
9. 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。390 頁。
10. 張繼(主編)(2022)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第四冊。廣東科技出版社。421~422 頁。
11. 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。779~783 頁。
12. 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。450 頁。
13. 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。621~622 頁。

豬苓(POLYPORUS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店豬苓藥材共 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 2998、Photodiode Array Detector；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)購置於永定科技有限公司。

(二) 標準品

麥角固醇(Ergosterol)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 4 份，每份準確稱取約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、乙醇、75%乙醇各 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 10 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麥角固醇最大波峰面積為最佳豬苓藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 10 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，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，直到麥角固醇被萃取完全，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麥角固醇 1.0 mg，加 2 mL 甲醇製成每 1 mL 含麥角固醇 500 $\mu\text{g/mL}$ 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 20 $\mu\text{g/mL}$ 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 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 分鐘，離心 10 分鐘(約 $5000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入至 25 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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麥角固醇的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取麥角固醇對照標準品儲備溶液(500 $\mu\text{g/mL}$)適量，以甲醇稀釋成含麥角固醇分別為 100、50、30、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

以麥角固醇濃度為 20 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以麥角固醇的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售豬苓藥材粉末，依豬苓檢品溶液製備方法平行製備五份豬苓藥材檢品溶液，進樣測定，以麥角固醇的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售豬苓藥材粉末，依豬苓檢品溶液製備方法製備豬苓藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以麥角固醇的波峰面積為指標，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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知麥角固醇含量的豬苓藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 1 mL 的麥角固醇溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)，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：COSMOSIL5C₁₈-AR-II C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：283 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(%)
0	100
20	100

(十二) 臺灣市售豬苓藥材含量測定

取 10 批市售豬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 公式計算樣品麥角固醇的百分比含量。

(十三) 豬苓藥材檢品之 UPLC 層析條件

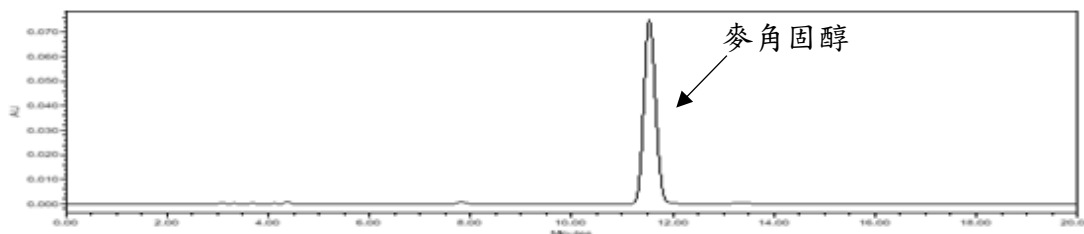
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)
0	100
20	100

五、結果

(一) 對照標準品麥角固醇之 HPLC 層析

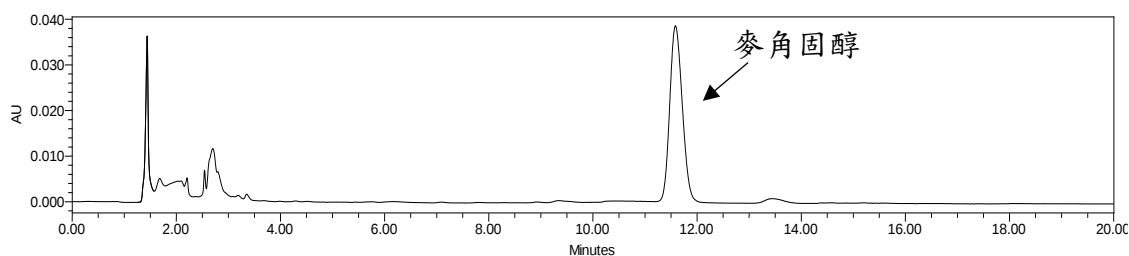
於滯留時間 11.6 分鐘處顯示麥角固醇對照標準品波峰(圖一)。



圖一、麥角固醇對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售豬苓藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 11.6 分鐘顯示豬苓檢品中麥角固醇的波峰，(圖二)。麥角固醇之分離率(R)為 4.46，托尾因子(T)為 1.09，均在系統適用性要求內。



圖二、市售豬苓藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得麥角固醇的波峰面積最大，顯示甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

溶媒	麥角固醇波峰面積	最佳萃取
甲醇	870625	√
75% 甲醇	48379	
乙醇	408269	
75% 乙醇	223223	

(四) 最佳萃取次數評估

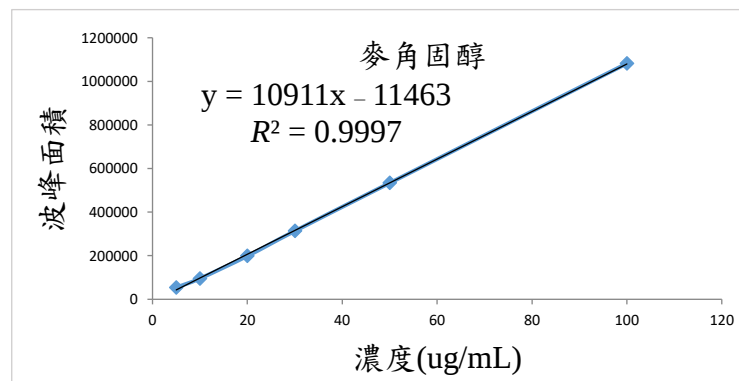
結果顯示萃取 2 次基本上已將麥角固醇萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、豬苓藥材檢品萃取次數評估

甲醇	麥角固醇波峰面積
第 1 次	870625
第 2 次	145192
第 3 次	N.D.

(五) 標準品麥角固醇之檢量線

經不同濃度麥角固醇(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 $y = 10911x - 11463$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 5.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品麥角固醇之檢量線圖

表三、麥角固醇之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
麥角固醇	5.0–100	$y = 10911x - 11463$	0.9997

(六) 精密度試驗

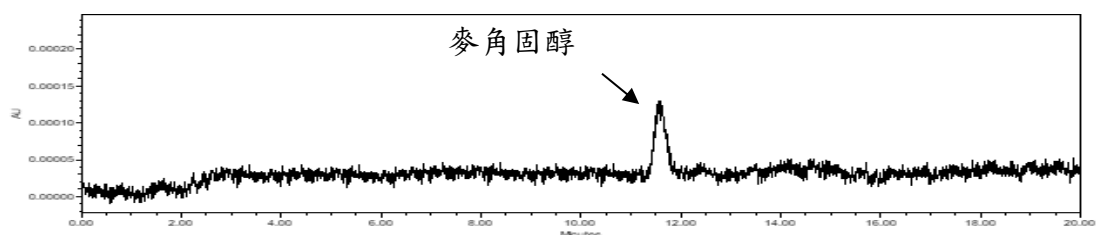
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，麥角固醇精密度之相對標準差為 0.25 %，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

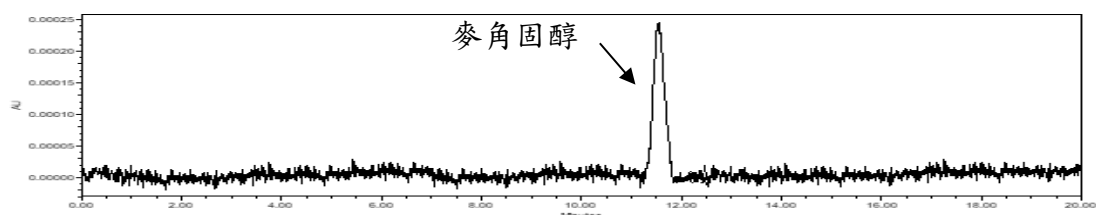
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，麥角固醇重複性之相對標準差為 0.78 %，在系統適用性要求內。麥角固醇在 24 小時內穩定，麥角固醇穩定性之相對標準差為 2.12 %，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

麥角固醇偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、麥角固醇之偵測極限層析圖



圖五、麥角固醇之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	咖啡酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 $\mu\text{g/mL}$	0.25
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.78
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	2.12
偵測極限 (n=1)	0.2 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限 (n=1)	0.5 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

麥角固醇平均添加回收率為 98.0%，相對標準偏差為 2.25 % (表五)。

表五、麥角固醇添加回收率

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	0.2498	0.337	0.2	0.532	97.0	98.02	2.25
2	0.2501	0.338	0.2	0.538	99.6		
3	0.2503	0.338	0.2	0.537	99.2		
4	0.2500	0.337	0.2	0.528	94.6		
5	0.2502	0.338	0.2	0.538	99.7		

(十) 臺灣市售豬苓藥材含量測定

10 批豬苓藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，麥角固醇含量為 0.141–0.21%。建議豬苓藥材指標成分麥角固醇的含量不得少於 0.07%。理論板數按麥角固醇波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 11470)。

表六、臺灣市售豬苓檢品之麥角固醇含量

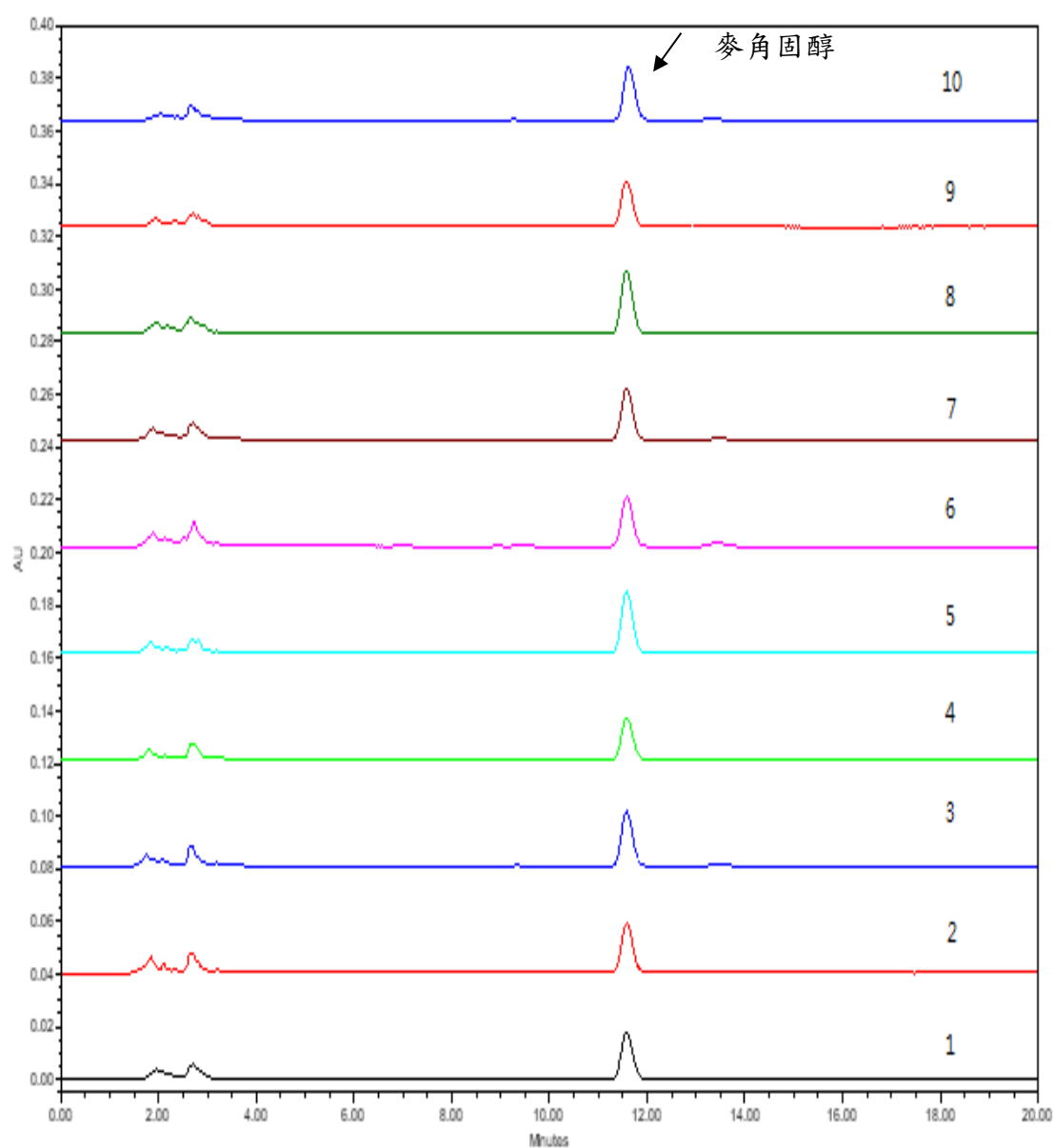
藥材編號(No.)	麥角固醇含量(%)
1 (CB)	0.167
2 (CE)	0.180
3 (NC)	0.141
4 (NJ)	0.205
5 (NRA)	0.168
6 (NRB)	0.171
7 (NWA)	0.162
8 (NX)	0.210
9 (SK1)	0.155
10 (SUB)	0.178
平均值±S.D.	0.174±0.02

(十一) 豬苓藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售豬苓藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL5C₁₈-AR-II C18 Column (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：283 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：

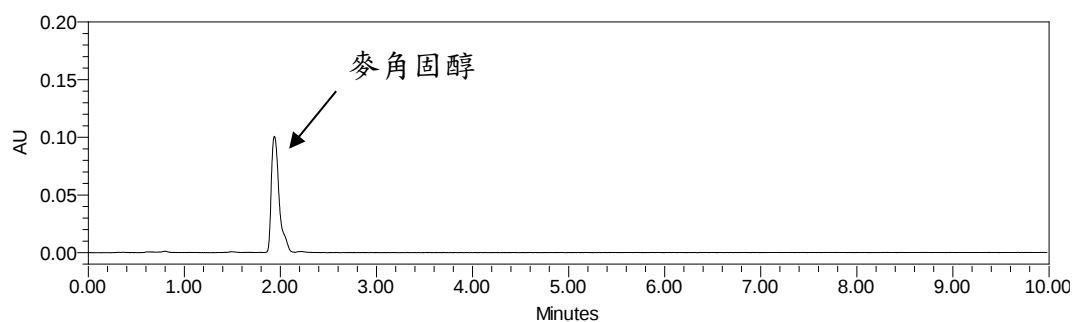
時間(min)	甲醇(%)
0	100
20	100



圖六、10 批豬苓藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品麥角固醇之 UPLC 層析

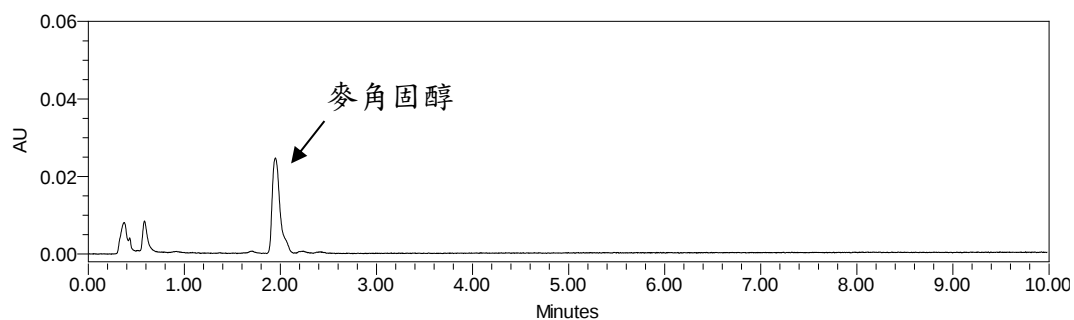
於滯留時間 1.93 分鐘顯示麥角固醇對照標準品的波峰(圖七)。



圖七、麥角固醇對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售豬苓藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.93 分鐘顯示豬苓藥材檢品中麥角固醇的波峰 (圖八)。

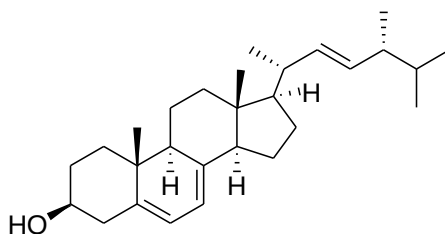


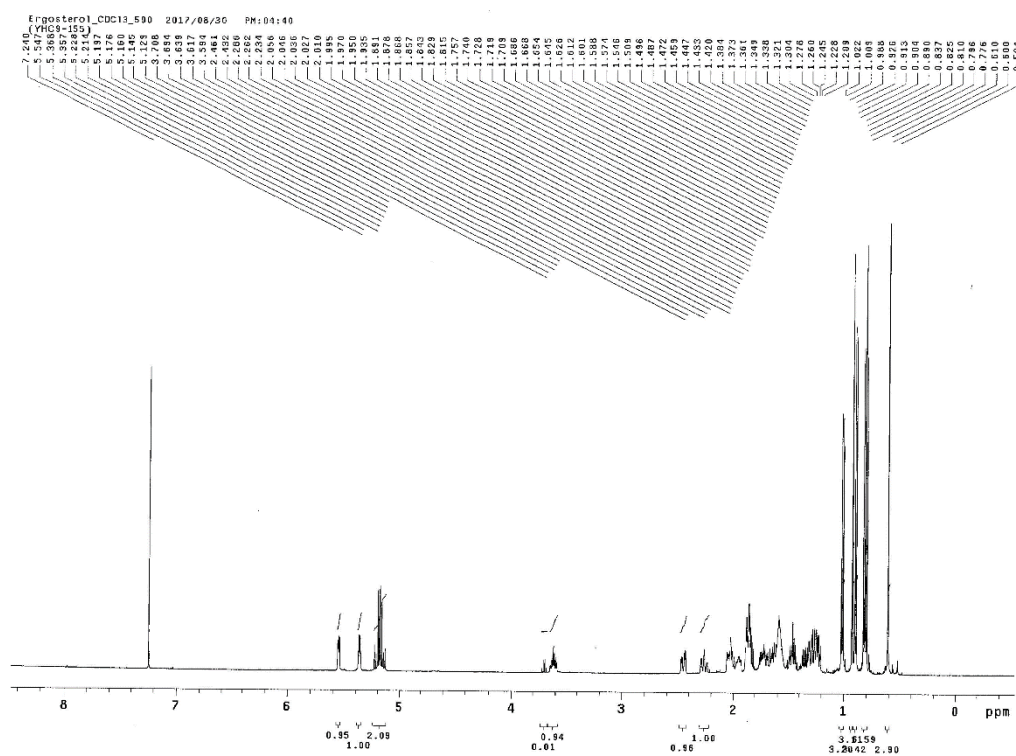
圖八、市售豬苓藥材檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 麥角固醇的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{19}H_{18}O_8$ ；分子量：396.65；熔點：158–160 °C；白色固體。

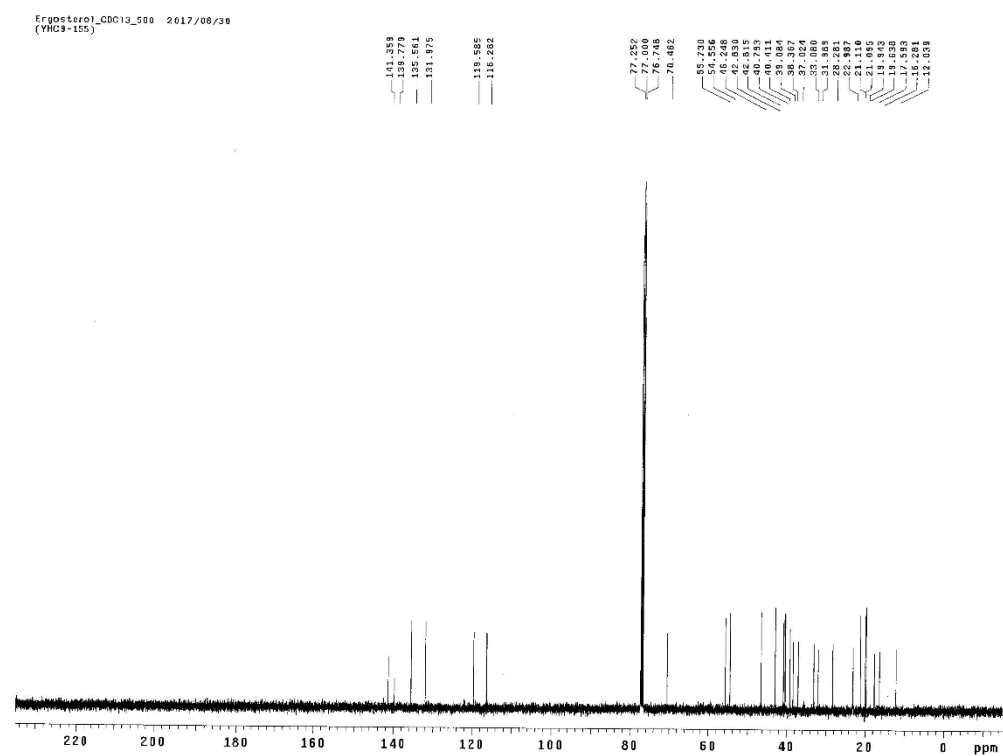
(十五) 麥角固醇的結構



(十六) 麥角固醇的 ^1H NMR 圖譜

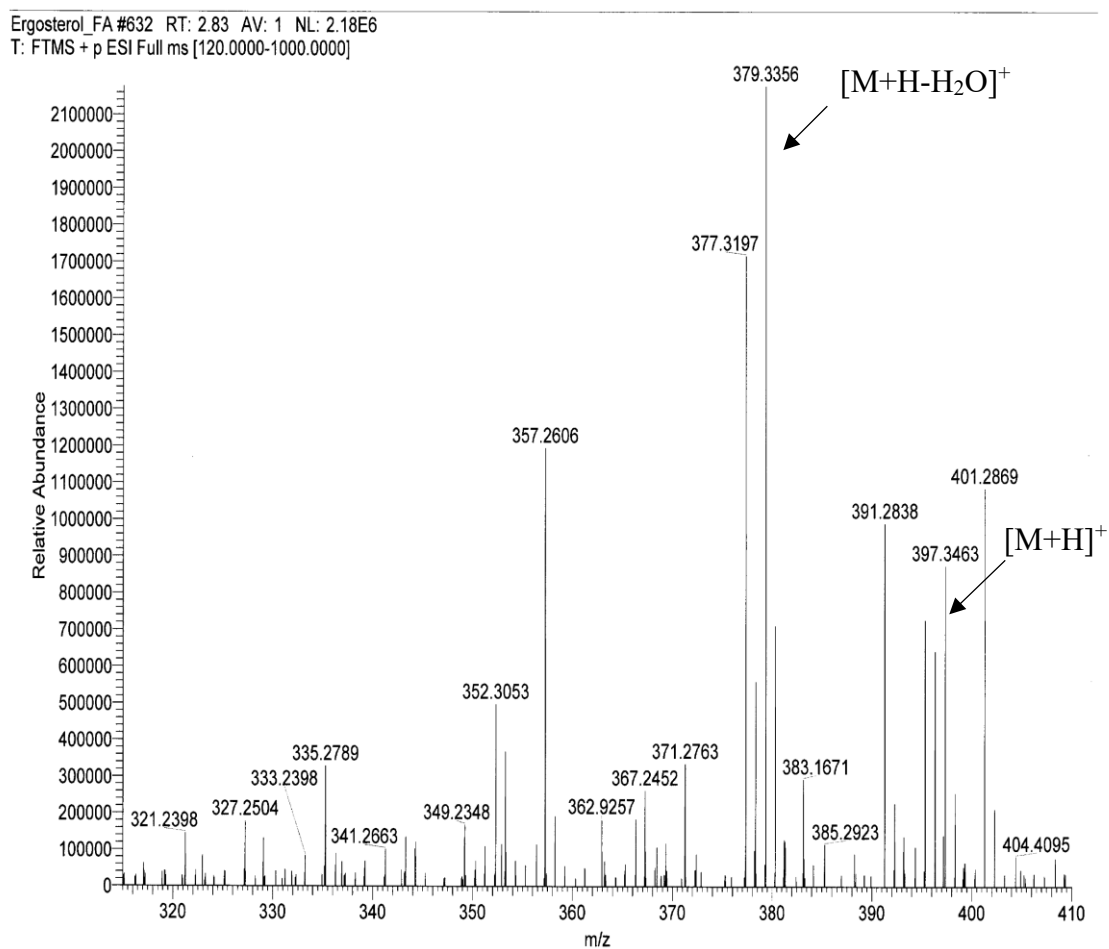
圖九、麥角固醇的 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十七) 麥角固醇的 ^{13}C NMR 圖譜



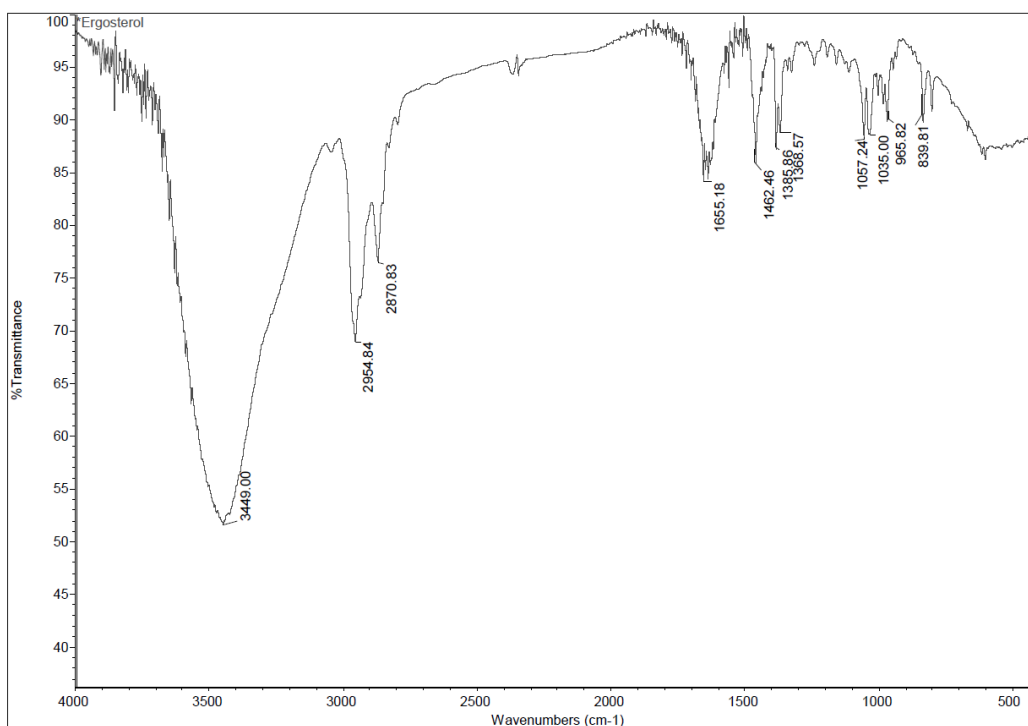
圖十、麥角固醇的 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(十八) 麥角固醇的 ESI-MS 圖譜



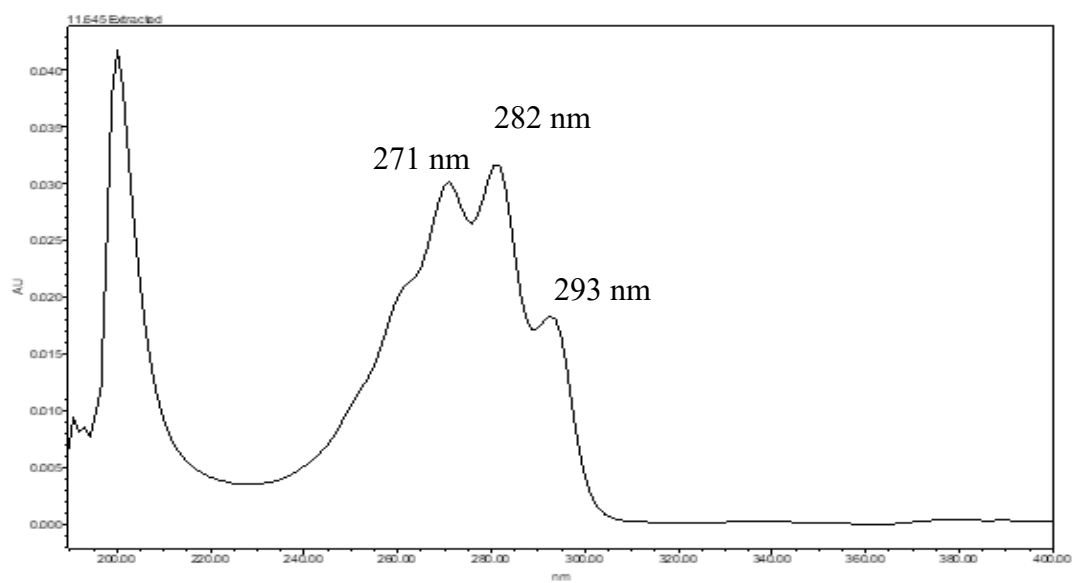
圖十一、麥角固醇的 ESI-MS 圖譜

(十九) 麥角固醇的 FTIR 圖譜



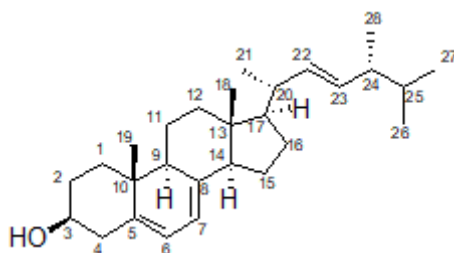
圖十二、麥角固醇的 FTIR 圖譜

(二十) 麥角固醇的 UV 圖譜



圖十三、麥角固醇的 UV 圖譜

(二十一) 麥角固醇的氫、碳化學位移



表七、麥角固醇的氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)
1	1.24–1.32 (m), 1.83–1.89 (m)	38.4
2	1.42–1.49 (m), 1.83–1.89 (m)	32.0
3	3.59–3.64 (m)	70.5
4	2.23–2.29 (m), 2.43–2.47 (m)	40.8
5	-	139.8
6	5.55 (dd, 5.5, 2.5)	119.6
7	5.35–5.37 (m)	116.3
8	-	141.4
9	1.93–1.98 (m)	46.2
10	-	37.0
11	1.54–1.60 (m), 1.68–1.76 (m)	21.1
12	1.22–1.27 (m), 2.02–2.06 (m)	39.1
13	-	42.8
14	1.84–1.89 (m)	54.6
15	1.32–1.38 (m), 1.61–1.67 (m)	23.0
16	1.26–1.32 (m), 1.70–1.76 (m)	28.3
17	1.22–1.27 (m)	55.7
18	0.61 (s)	12.0
19	0.93 (s)	16.3
20	1.98–2.06 (m)	40.4
21	1.02 (d, 6.5)	21.1
22	5.15 (dd, 15.5, 8.0)	135.6
23	5.21 (dd, 15.5, 7.0)	132.0
24	1.80–1.86 (m)	42.8
25	1.42–1.47 (m)	33.1
26	0.80 (d, 7.0)*	19.6
27	0.82 (d, 7.5)*	19.9
28	0.90 (d, 7.0)	17.6

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

豬苓

生藥名：POLYPORUS

英文名：Agaric

基 原：本品為多孔菌科 Polyporaceae 植物真菌豬苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 之乾燥菌核。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾蒸乾，殘渣加 1 mL 甲醇使之溶解，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，加甲醇 20 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】《香港中藥材標準第七冊》

——取本品粉末 5.0 g，加甲醇 50 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾蒸乾，殘渣加 1 mL 甲醇使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取麥角固醇(Ergosterol)對照標準品，加甲醇製成每 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 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——石油醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (3：1)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》

——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》✓

——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

(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，置於可見光及紫外光(365nm)下檢視之。

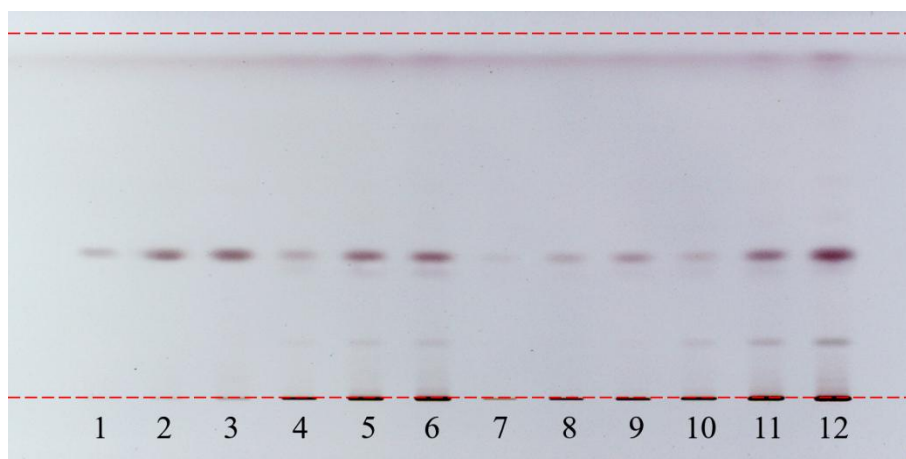
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：112/08/01

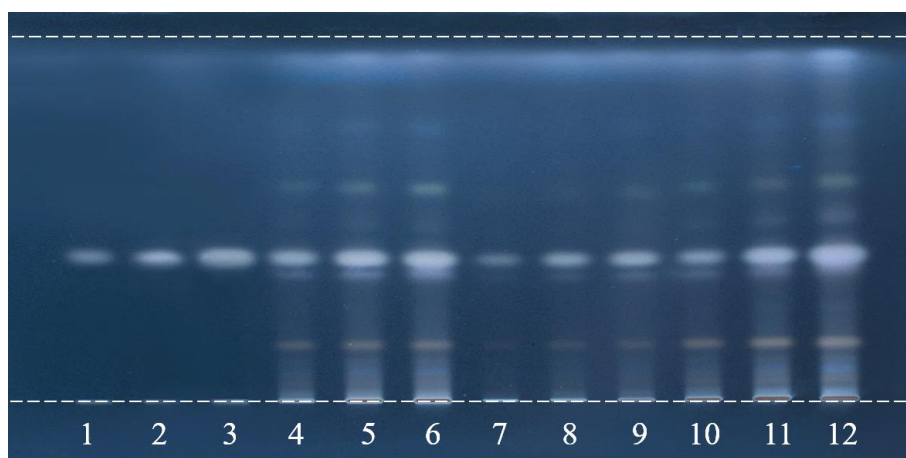
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)
——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	麥角固醇(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
10, 11, 12	檢品溶液 4【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出麥角固醇，因濃度適中，故維持原臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：麥角固醇 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】5 μ L。

三、溶媒系統選擇

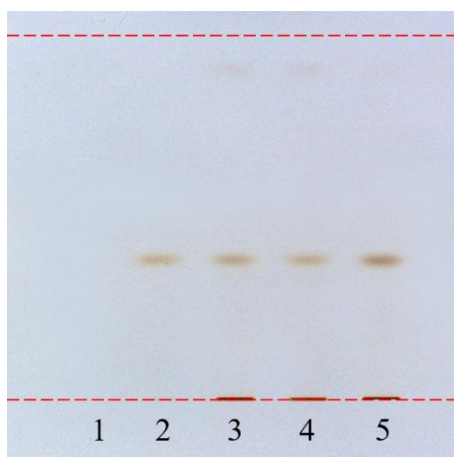
實驗日期：112/08/01

相對溼度(RH)：62%

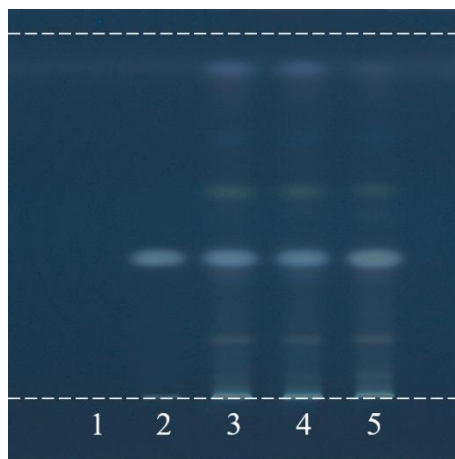
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——石油
醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯
色後可見光檢出(麥角固醇 R_f 值為 0.38)

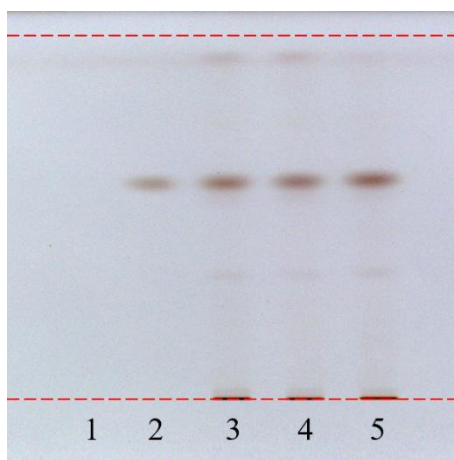


【萃取方法】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後紫外光(365 nm)檢出(麥角固醇 R_f 值為 0.38)

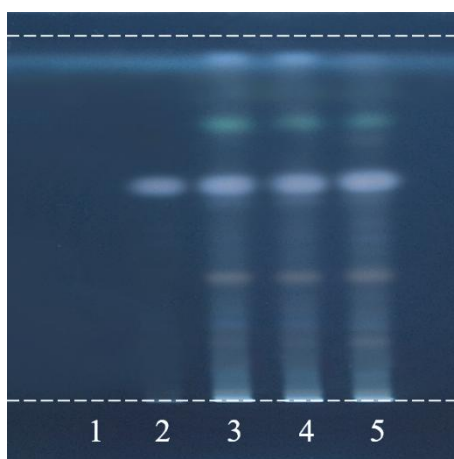


【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

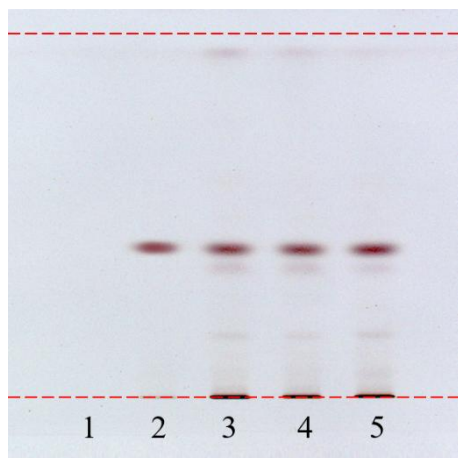
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後可見光檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.58)



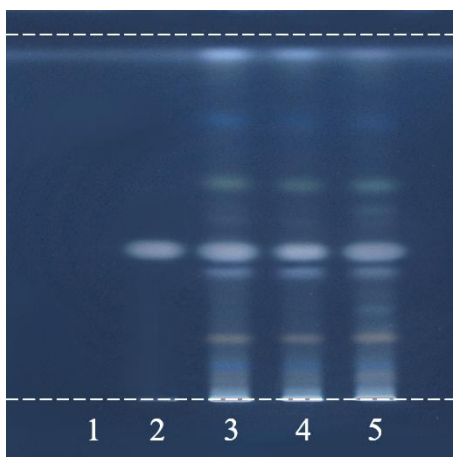
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後紫外光(365 nm)檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.58)



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.37)



【萃取方法1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.37)



1 : Blank 3 , 4 : 檢品溶液 4
2 : 麥角固醇 5 : Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以修飾《香港中藥材標準第七冊》之【展開劑 3】展開，顯示麥角固醇的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：112/08/01

相對溼度(RH)：62%

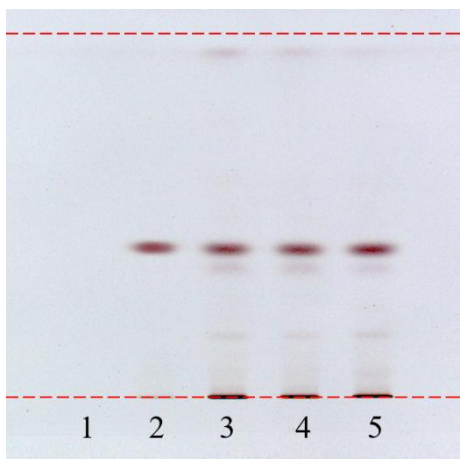
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

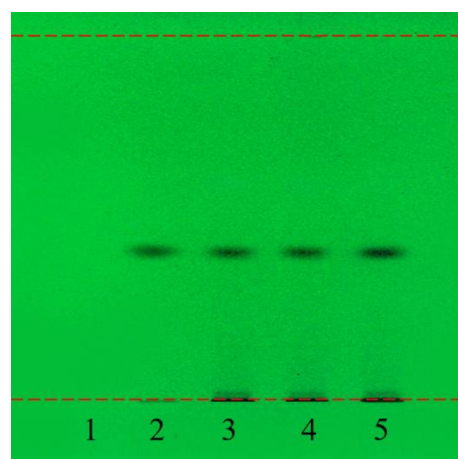
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 可見光檢出



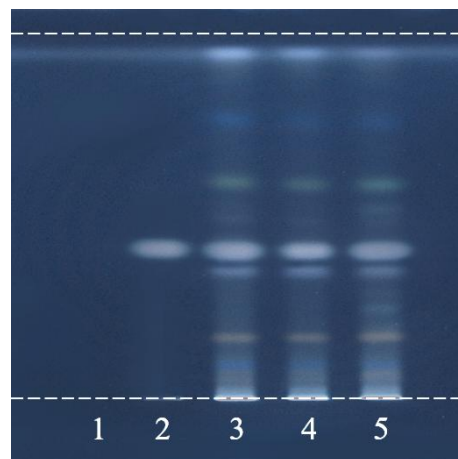
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出✓



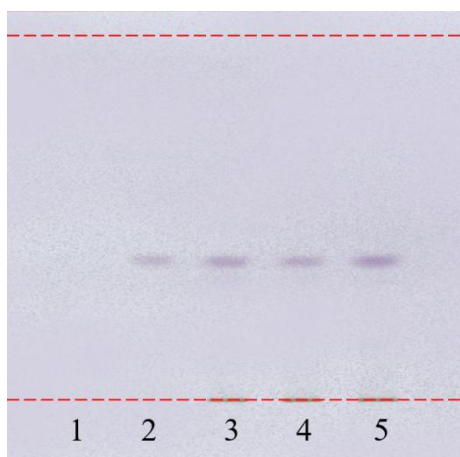
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



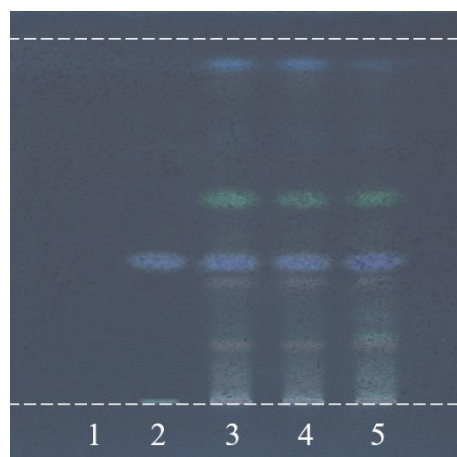
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



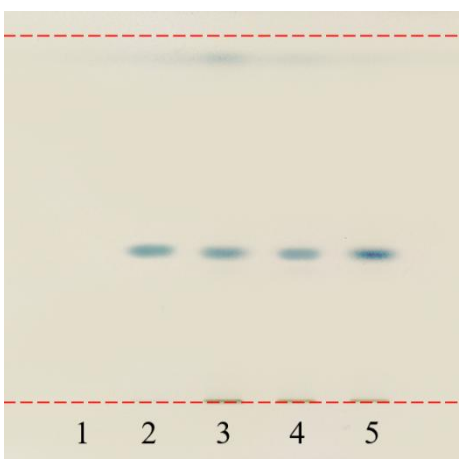
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 5%香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



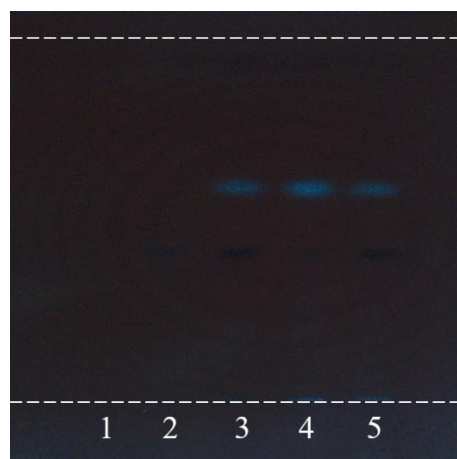
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 5%香莢蘭醛-硫酸試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%磷鉬酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%磷鉬酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



- 1：Blank
- 2：麥角固醇
- 3，4：檢品溶液 4
- 5：Spike

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後，於可見光及紫外光(365 nm)檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批豬苓藥材樣品檢測

實驗日期：112/08/01

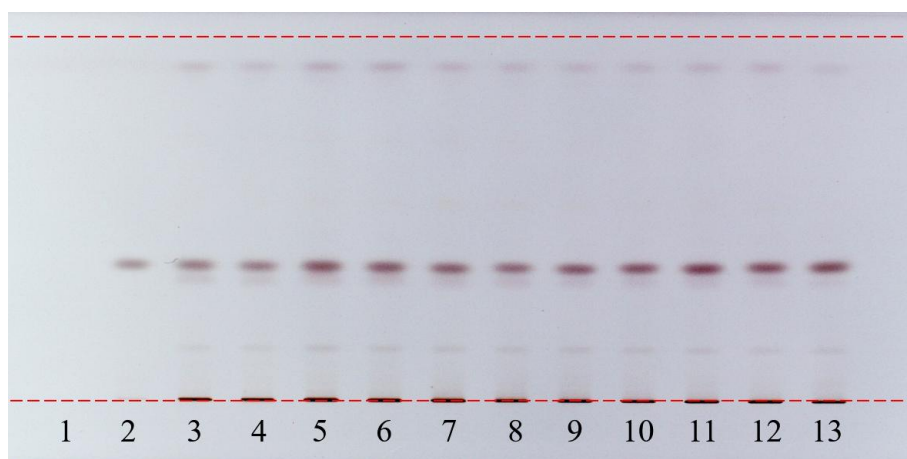
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：24.5 °C

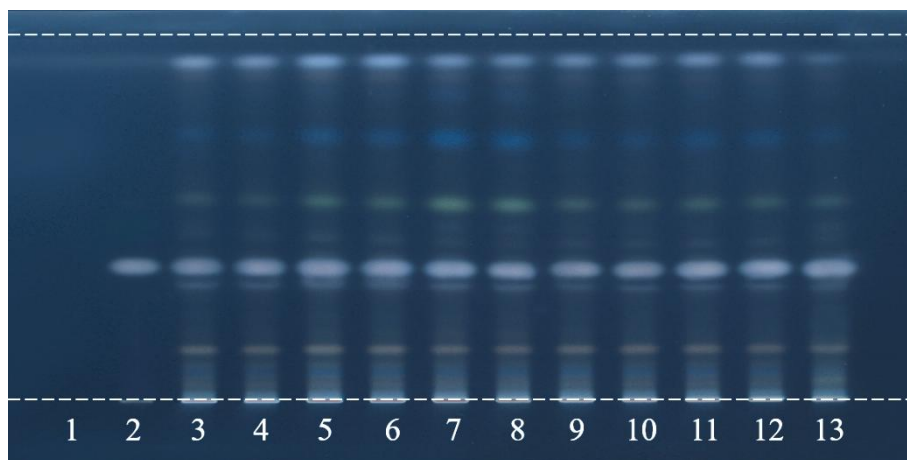
【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC

(1) 10%硫酸/乙醇試液顯色可見光檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

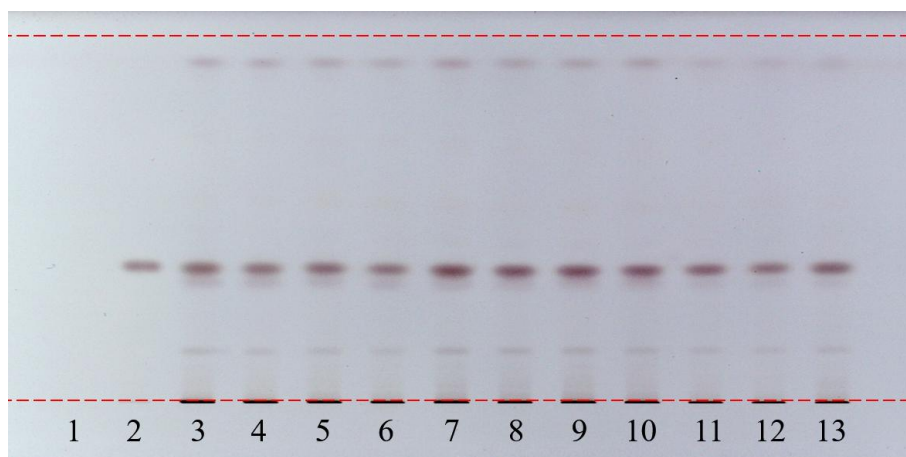


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NRA)
2	麥角固醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NRB)
3, 4	檢品溶液 1 (NC)	11, 12	檢品溶液 5 (NWA)
5, 6	檢品溶液 2 (NJ)	13	Spike (檢品溶液 4)

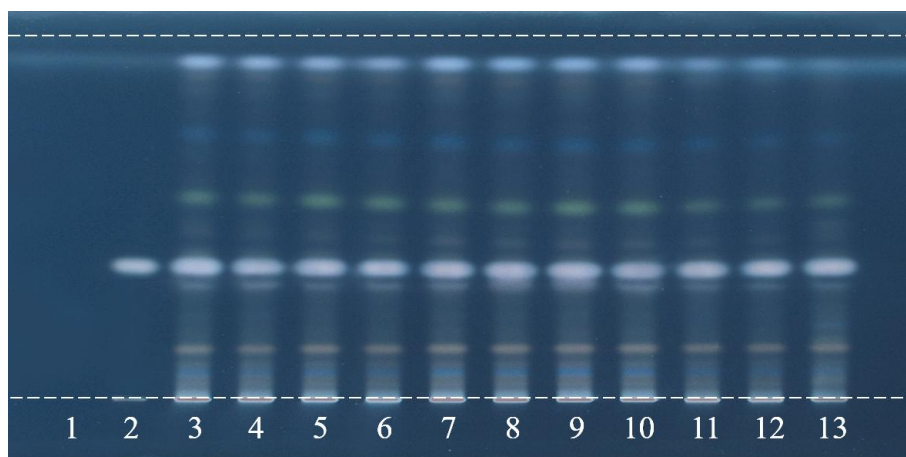
【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC

(1) 10%硫酸/乙醇試液顯色可見光檢出



(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	麥角固醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SK1)
3, 4	檢品溶液 6 (NX)	11, 12	檢品溶液 10 (SUB)
5, 6	檢品溶液 7 (CB)	13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 1】方式及修飾《香港中藥材標準第七冊》之【展開劑 3】分離與檢出麥角固醇較佳，以 10%硫酸/乙醇顯色後於可見光及紫外光 (365 nm) 檢視較佳。

豬苓飲片(POLYPORUS)

一、材料

購置於臺灣各地中藥店豬苓飲片共 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 2998、Photodiode Array Detector；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)購置於永定科技有限公司。

(二) 標準品

麥角固醇(Ergosterol)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

豬苓飲片萃取溶媒同豬苓藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

豬苓飲片萃取次數同豬苓藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品麥角固醇 1.0 mg，加 2 mL 甲醇製成每 1 mL 含麥角固醇 500μg/mL 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 20 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 0.5 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 10 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 60 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，移入至 25 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾

(syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

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標準品麥角固醇的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取麥角固醇對照標準品儲備溶液(500 $\mu\text{g/mL}$)適量，以甲醇稀釋成含麥角固醇分別為 100、50、30、20、10、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 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

以麥角固醇濃度為 20 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以麥角固醇的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售豬苓飲片粉末，依豬苓飲片檢品溶液製備方法平行製備五份豬苓飲片檢品溶液，進樣測定，以麥角固醇的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售豬苓飲片粉末，依豬苓飲片檢品溶液製備方法製備豬苓飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以麥角固醇的波峰面積為指標，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 $\geq 3:1$ 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 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知麥角固醇含量的豬苓飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 0.25 g，分別加入 1 mL 的麥角固醇溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)，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：COSMOSIL5C₁₈-AR-II C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：283 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35℃
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)
0	100
20	100

(十二) 臺灣市售豬苓飲片含量測定

取 10 批市售豬苓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 公式計算樣品麥角固醇的百分比含量。

(十三) 豬苓飲片檢品之 UPLC 層析條件

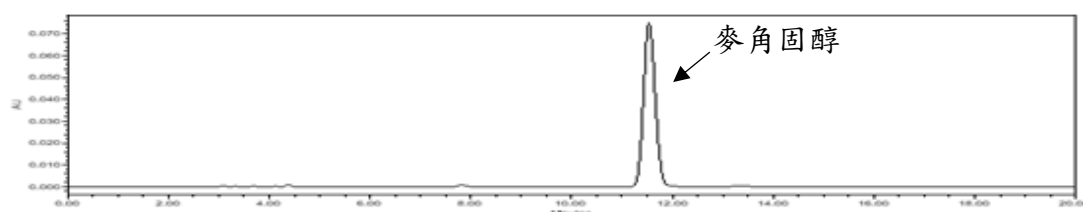
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：283 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)
0	100
20	100

五、結果

(一) 對照標準品麥角固醇之 HPLC 層析

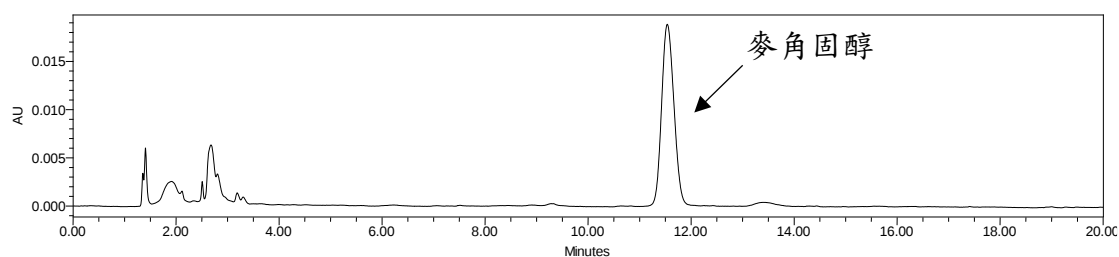
於滯留時間 11.6 分鐘處顯示麥角固醇對照標準品波峰(圖一)。



圖一、麥角固醇對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售豬苓飲片檢品之 HPLC 層析

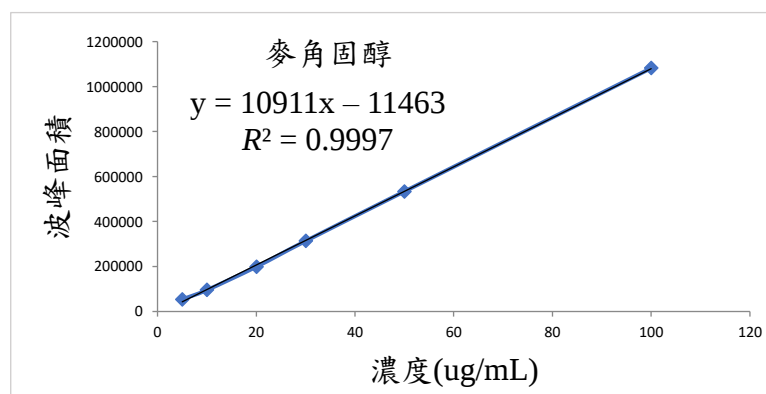
於滯留時間 11.6 分鐘顯示豬苓飲片檢品中麥角固醇的波峰，(圖二)。麥角固醇之分離率(R)為 5.08，托尾因子(T)為 1.10，均在系統適用性要求內。



圖二、市售豬苓飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 標準品麥角固醇之檢量線

經不同濃度麥角固醇(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 $y = 10911x - 11463$ ， $R^2 = 0.9997$ ，顯示濃度在 5.0–100 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、標準品麥角固醇之檢量線圖

表一、麥角固醇之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
麥角固醇	5.0–100	$y = 10911x - 11463$	0.9997

(四) 精密度試驗

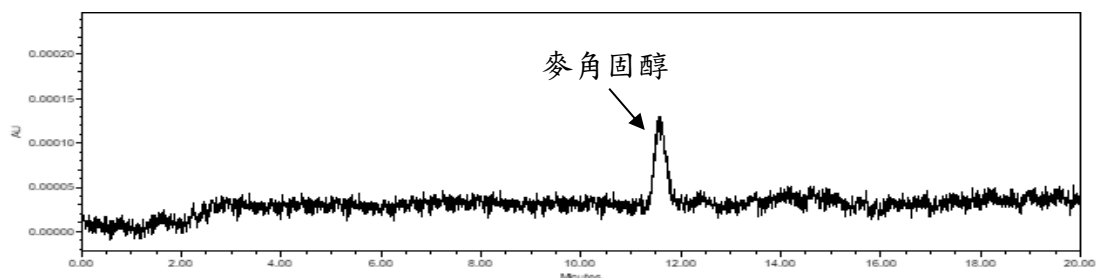
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，麥角固醇精密度之相對標準差為 0.25 %，在系統適用性要求內。

(五) 重複性與穩定性試驗

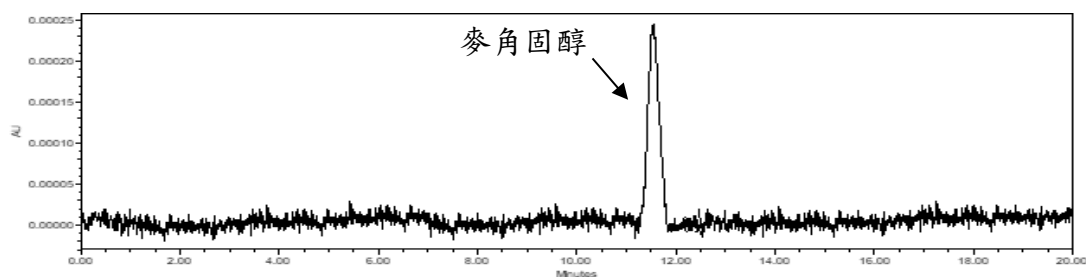
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，麥角固醇重複性之相對標準差為 0.80 %，在系統適用性要求內。麥角固醇在 24 小時內穩定，麥角固醇穩定性之相對標準差為 0.94 %，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

麥角固醇偵測極限為 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、麥角固醇之偵測極限層析圖



圖五、麥角固醇之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	咖啡酸	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	20 µg/mL	0.25
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.80
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.4)	0.94
偵測極限 (n=1)	0.2 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	0.5 µg/mL	-

(七) 添加回收率試驗

麥角固醇平均添加回收率為 97.8%，相對標準偏差為 1.59 % (表三)。

表三、麥角固醇添加回收率

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	0.2502	0.282	0.2	0.476	97.0	97.80	1.59
2	0.2503	0.282	0.2	0.480	98.9		
3	0.2505	0.283	0.2	0.484	95.4		
4	0.2498	0.282	0.2	0.480	98.9		
5	0.2500	0.282	0.2	0.480	98.8		

(八) 臺灣市售豬苓飲片含量測定

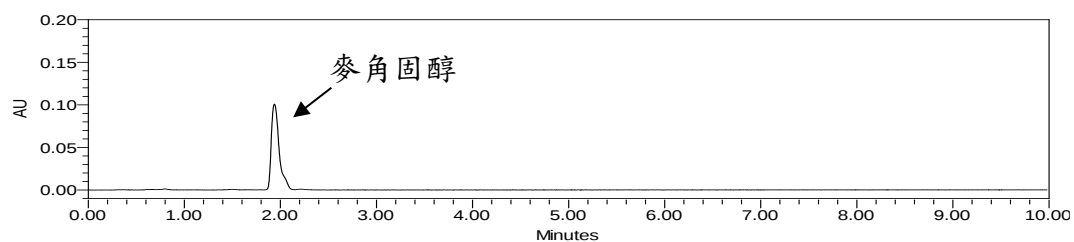
10 批豬苓飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，麥角固醇含量為 0.107–0.152%。建議豬苓飲片指標成分麥角固醇的含量不得少於 0.07%。理論板數按麥角固醇波峰計算均應不低於 5000 (實際值為 11486)。

表四、臺灣市售豬苓飲片檢品之麥角固醇含量

藥材編號 (No.)	麥角固醇含量 (%)	藥材編號 (No.)	麥角固醇含量 (%)
1 (CB)	0.107	6 (NRB)	0.128
2 (CE)	0.131	7 (NWA)	0.117
3 (NC)	0.134	8 (NX)	0.140
4 (NJ)	0.128	9 (SK1)	0.151
5 (NRA)	0.113	10 (SUB)	0.152
平均值±S.D.	0.130±0.02		

(九) 標準品麥角固醇之 UPLC 層析

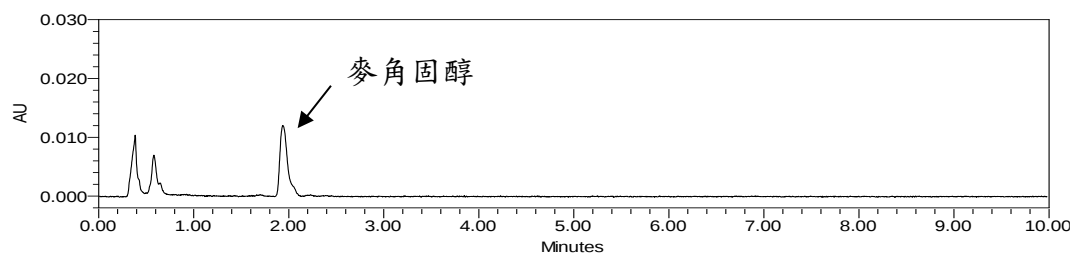
於滯留時間 1.93 分鐘顯示麥角固醇標準品的波峰(圖六)。



圖六、麥角固醇標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售豬苓飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.93 分鐘顯示豬苓飲片檢品中麥角固醇的波峰 (圖七)。



圖七、市售豬苓飲片檢品之 UPLC 層析圖

豬苓飲片

生藥名：POLYPORUS

英文名：Agaric

基 原：本品為多孔菌科 Polyporaceae 植物真菌豬苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 之乾燥菌核。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》✓

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾蒸乾，殘渣加 1 mL 甲醇使之溶解，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，加甲醇 20 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】《香港中藥材標準第七冊》

——取本品粉末 5.0 g，加甲醇 50 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾蒸乾，殘渣加 1 mL 甲醇使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取麥角固醇(Ergosterol)對照標準品，加甲醇製成每 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 2021》《中華人民共和國藥典 2020》

——石油醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (3：1)

【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》

——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》✓

——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

(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，置於可見光及紫外光(365nm)下檢視之。

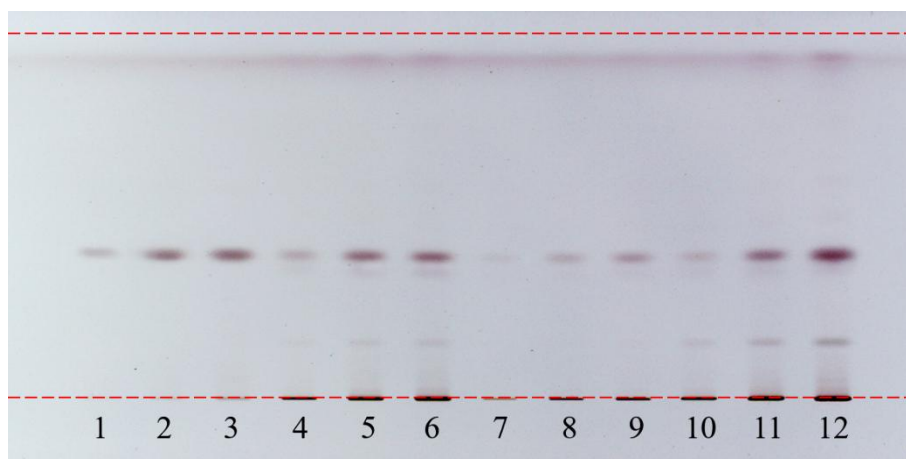
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：112/08/01

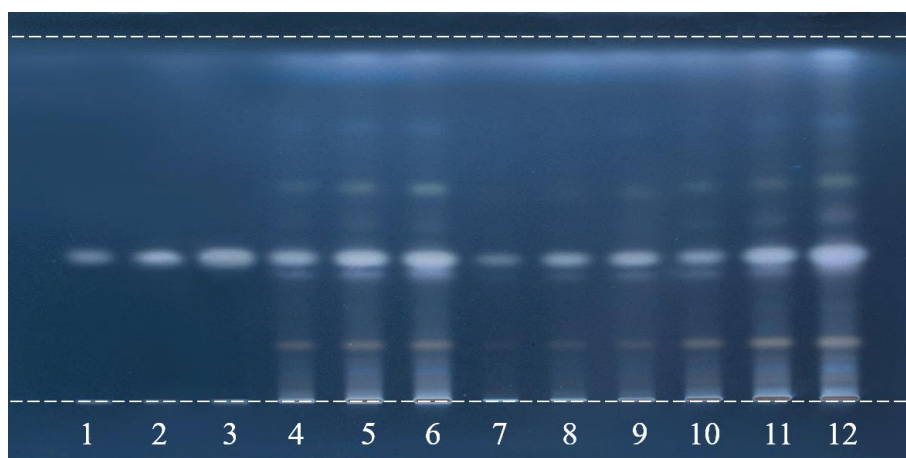
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)
——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	麥角固醇(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
10, 11, 12	檢品溶液 4【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：三種萃取方法，檢品溶液中皆可分離與檢出麥角固醇，因濃度適中，故維持原臺灣中藥典【萃取方法 1】。

建議點注量：麥角固醇 2 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】 5 μ L。

三、溶媒系統選擇

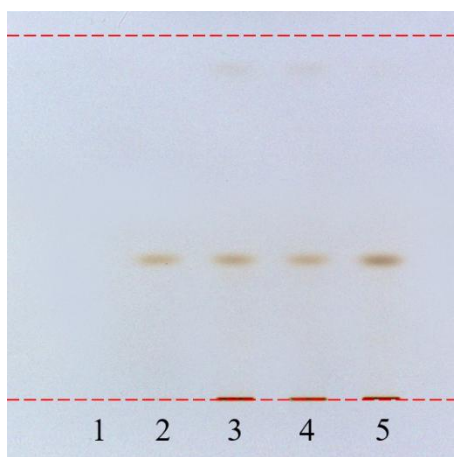
實驗日期：112/08/01

相對溼度(RH)：62%

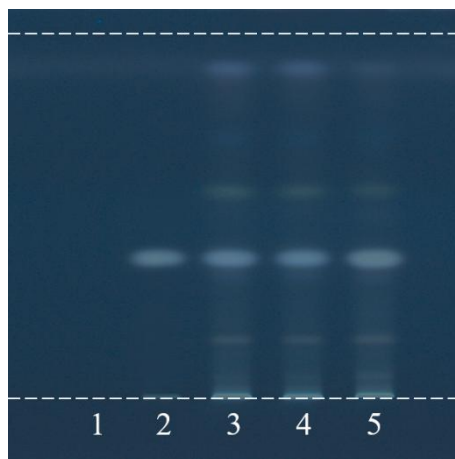
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版 2021》《中華人民共和國藥典 2020》——石油
醚(30~60°C)：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯
色後可見光檢出(麥角固醇 R_f 值為 0.38)

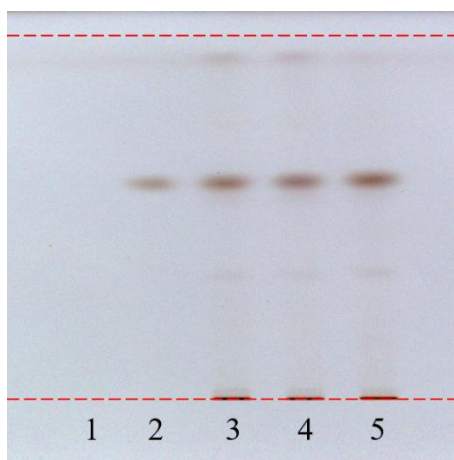


【萃取方法】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後紫外光(365 nm)檢出(麥角固醇 R_f 值為 0.38)

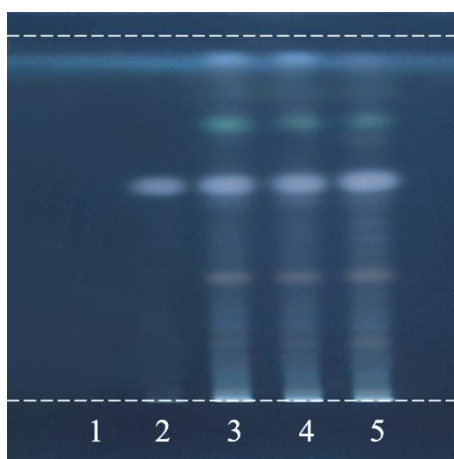


【展開劑 2】《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (5：3)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後可見光檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.58)

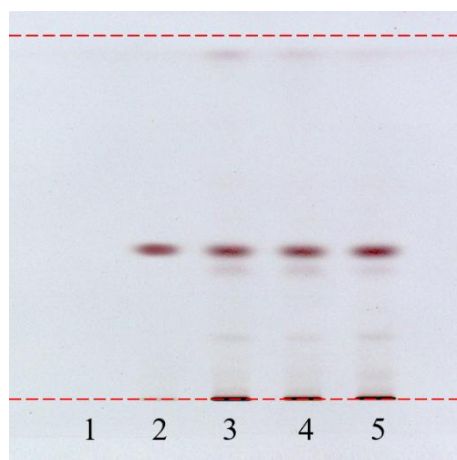


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色
後紫外光(365 nm)檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.58)

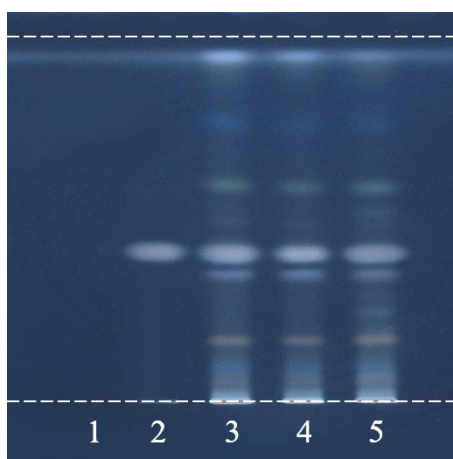


【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1) ✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.37)



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出 (麥角固醇 R_f 值為 0.37)



1：Blank 3，4：檢品溶液 4

2：麥角固醇 5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以修飾《香港中藥材標準第七冊》之【展開劑 3】展開，顯示麥角固醇的 R_f 值適中，分離佳，故採用【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：112/08/01

相對溼度(RH)：62%

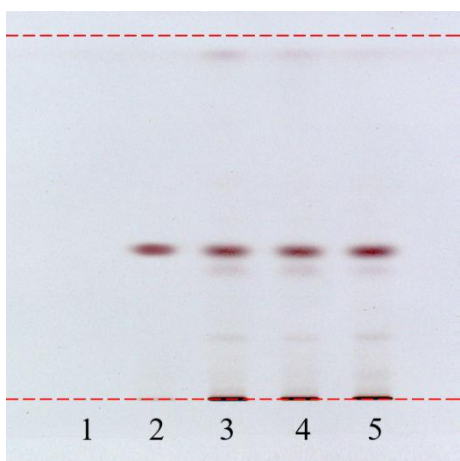
溫度(RT)：24.5 °C

【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

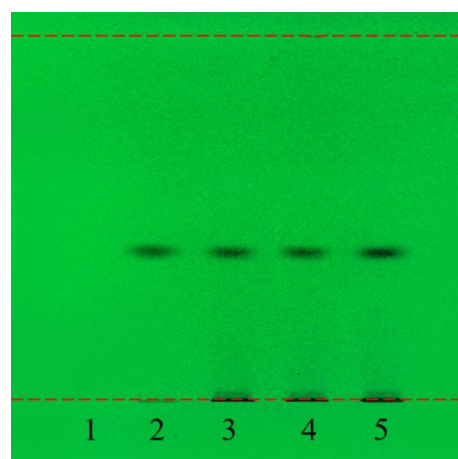
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 可見光檢出



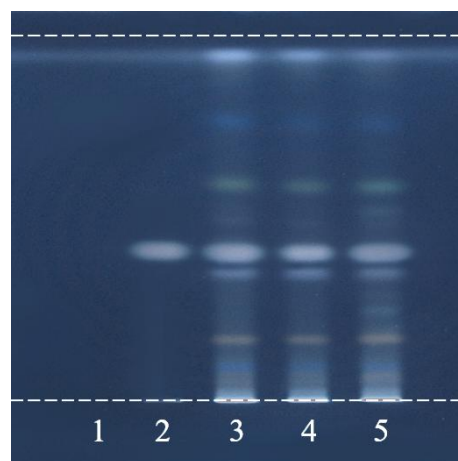
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出✓



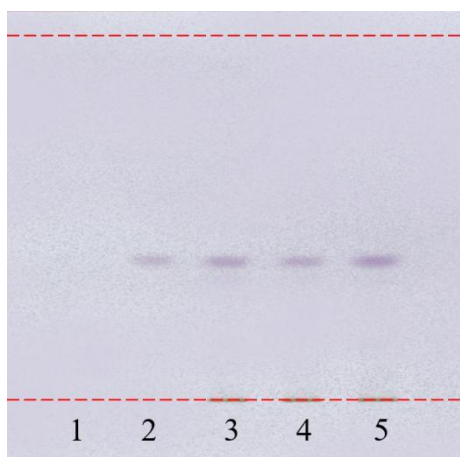
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



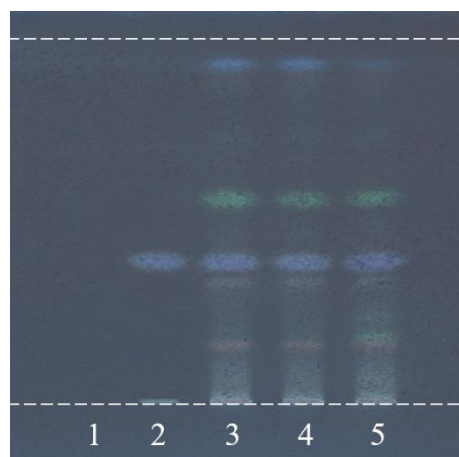
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出✓



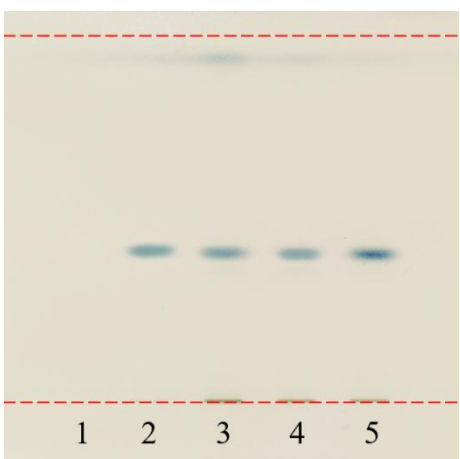
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 5%香莢蘭醛-硫酸試液顯色後可見光檢出



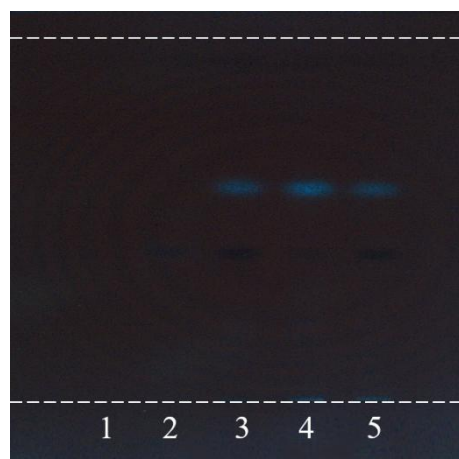
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 5%香莢蘭醛-硫酸試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%磷鉬酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC 10%磷鉬酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



- 1 : Blank
- 2 : 麥角固醇
- 3, 4 : 檢品溶液 4
- 5 : Spike

建議觀察方式：以 10%硫酸/乙醇試液顯色後，於可見光及紫外光(365 nm)檢視下，有較明顯分離之條帶。

五、十批豬苓飲片樣品檢測

實驗日期：112/08/01

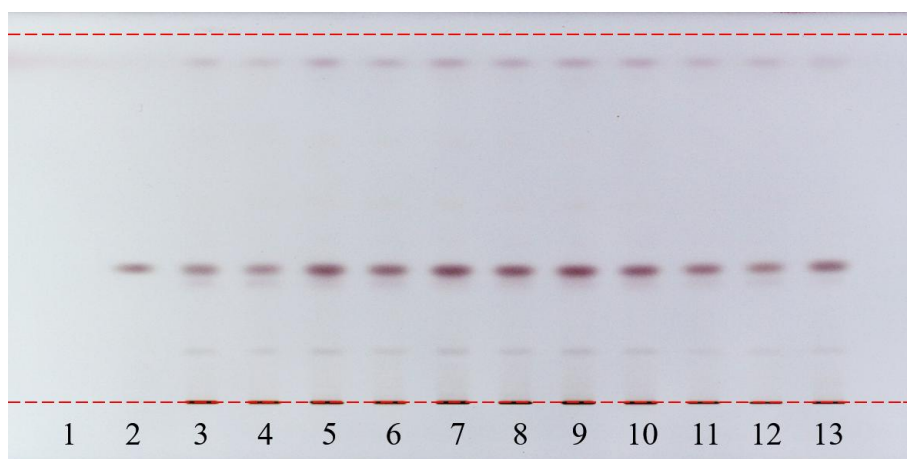
相對溼度(RH)：62%

溫度(RT)：24.5 °C

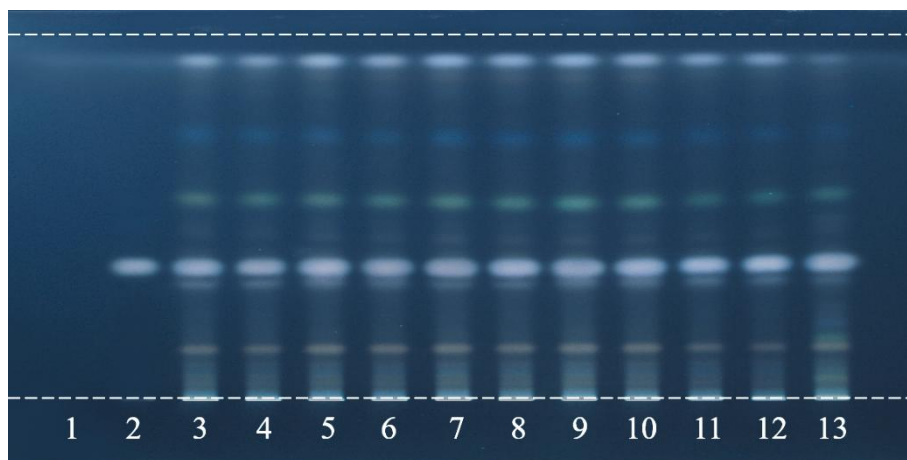
【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC

(1) 10%硫酸/乙醇試液顯色可見光檢出



(2) 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

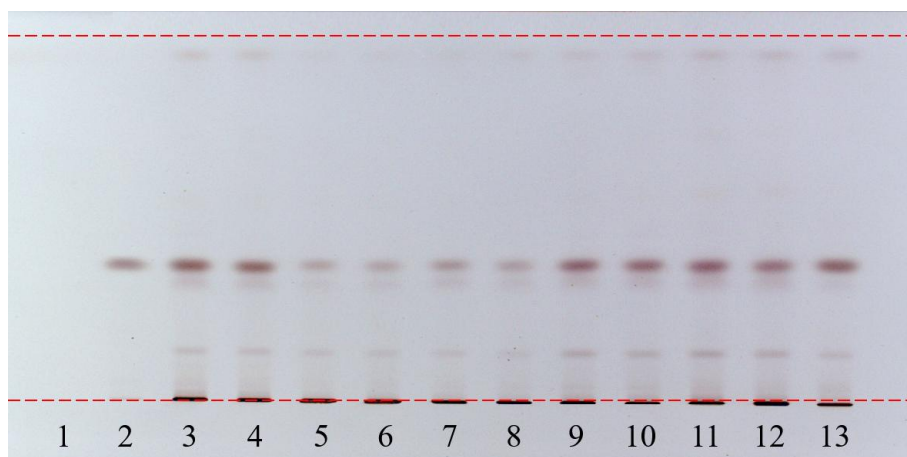


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NWB)
2	麥角固醇(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NWD)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)	11, 12	檢品溶液 5 (CA)
5, 6	檢品溶液 2 (NH)	13	Spike (檢品溶液 4)

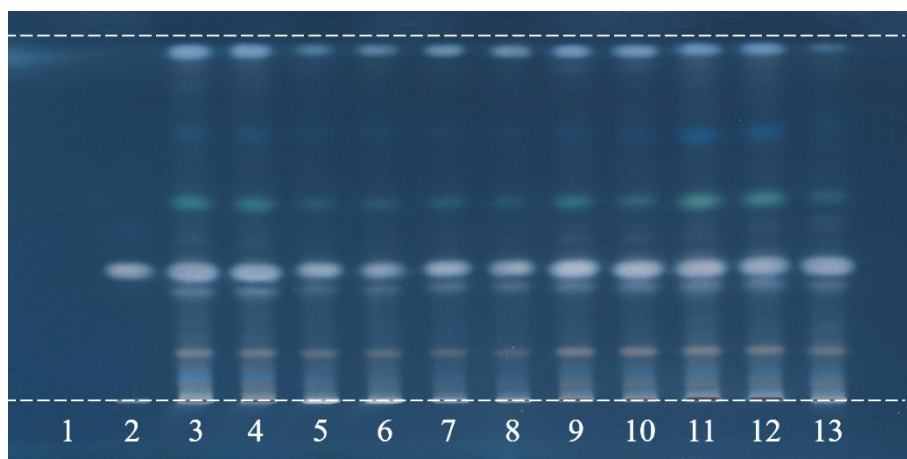
【展開劑 3】修飾《香港中藥材標準第七冊》——正己烷：乙酸乙酯 (3：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版 2021》—HPTLC

(1) 10%硫酸/乙醇試液顯色可見光檢出



(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 (SK3)
2	麥角固醇(1.0 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 (SUC)
5, 6	檢品溶液 7 (SK2)	13	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以【萃取方法 1】方式及修飾《香港中藥材標準第七冊》之【展開劑 3】分離與檢出麥角固醇較佳，以 10%硫酸/乙醇顯色後於可見光及紫外光 (365 nm) 檢視較佳。