

龍膽（龍膽）

(GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA)

龍膽（龍膽） 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
龍膽（龍膽） HPLC（藥材）	10
一、材料	10
二、儀器及層析管柱	10
三、實驗藥品及試劑來源	10
四、方法	10
五、結果	13
龍膽（龍膽） TLC（藥材）	22
一、方法	22
二、萃法選擇及濃度測試	23
三、溶媒系統選擇	24
四、觀察方式選擇	27
五、十批龍膽藥材樣品檢測	28

龍膽（龍膽）（目錄續）

龍膽（龍膽） HPLC（飲片）	30
一、材料	30
二、儀器及層析管柱	30
三、實驗藥品及試劑來源	30
四、方法	30
五、結果	33
龍膽（龍膽） TLC（飲片）	37
一、方法	37
二、萃法選擇及濃度測試	38
三、溶媒系統選擇	39
四、觀察方式選擇	42
五、十批龍膽飲片樣品檢測	43

龍膽(龍膽) MI

一、藥材採購及鑑定

收集 14 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龍膽的乾燥根及根莖。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：龍膽

生藥名：GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Chinese Gentian Root and Rhizome

基原：本品為龍膽科 Gentianaceae 植物龍膽 *Gentiana scabra* Bunge 之乾燥根及根莖。

採收加工：春、秋兩季採收，洗淨，乾燥。

藥材性狀：本品根莖多橫生，呈不規則塊狀，長 0.5~3.0 cm，直徑 0.3~0.8 cm，表面灰棕色或深棕色，有多個莖痕殘留。下面有 4~30 餘條根，常多於 20 條，根細長圓柱形，略扭曲，直徑 1~3 mm；表面灰白色或黃棕色，上部橫紋較明顯，下部有縱皺紋及細根痕。質脆，易吸潮變軟，斷面黃棕色，木質部呈黃白色點狀，環列，中央髓部明顯。氣微，味極苦。

生長分佈：多年生草本植物。喜涼爽氣候，對土壤要求不嚴，但以輕黏土及腐殖質土為宜，陽光直射強烈地區不宜栽培。龍膽花期、果期 5~11 月，分布於黑龍江、吉林、遼寧、浙江等地，藥材主產於遼寧新賓、清原縣。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

根：

1. 表皮細胞有時殘存。
2. 外皮層為 1 列類圓形或類橢圓形細胞，細胞切向延長，外壁稍厚，微木栓化，常含有脂肪油滴。
3. 皮層狹窄，為 3~5 列細胞，排列疏鬆，有裂隙。
4. 內皮層明顯，細胞 1 列，切向延長呈條狀，每一細胞由縱向壁分隔成數個小細胞。
5. 韌皮部寬厚，外側有不規則裂隙；篩管群細小，於形成層處較明顯。
6. 形成層不成環，僅在維管束外側較明顯。
7. 木質部髓線寬窄不一，導管群 8~10 群，呈楔形或 V 字形排列。
8. 中央為髓部，由薄壁細胞組成。
9. 韌皮部薄壁細胞含脂肪油滴和細小草酸鈣針晶，長 2.5~5.0 μm 。

根莖：

1. 最外層為木栓層，由數列木栓細胞組成。
2. 次生韌皮部寬廣，存在不規則裂隙。
3. 形成層於維管束外側較明顯。
4. 次生木質部導管數個徑向排列，導管及薄壁細胞斷續排列成環。
5. 具髓周韌皮束及髓維管束。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 粉末淡黃棕色。
2. 外皮層細胞表面觀多呈類長方形，每一細胞由橫向壁分隔成數個類長方形小細胞。
3. 內皮層細胞巨大，表面觀多呈縱向長方形，每一細胞由縱向壁分隔成數個柵狀小細胞，平周壁具纖細的橫向紋理。
4. 具細小草酸鈣結晶，多為針晶，亦有方晶。
5. 導管為網紋及階紋導管，直徑 20~40 μm ，另有少數螺紋導管，直徑 10~25 μm 。

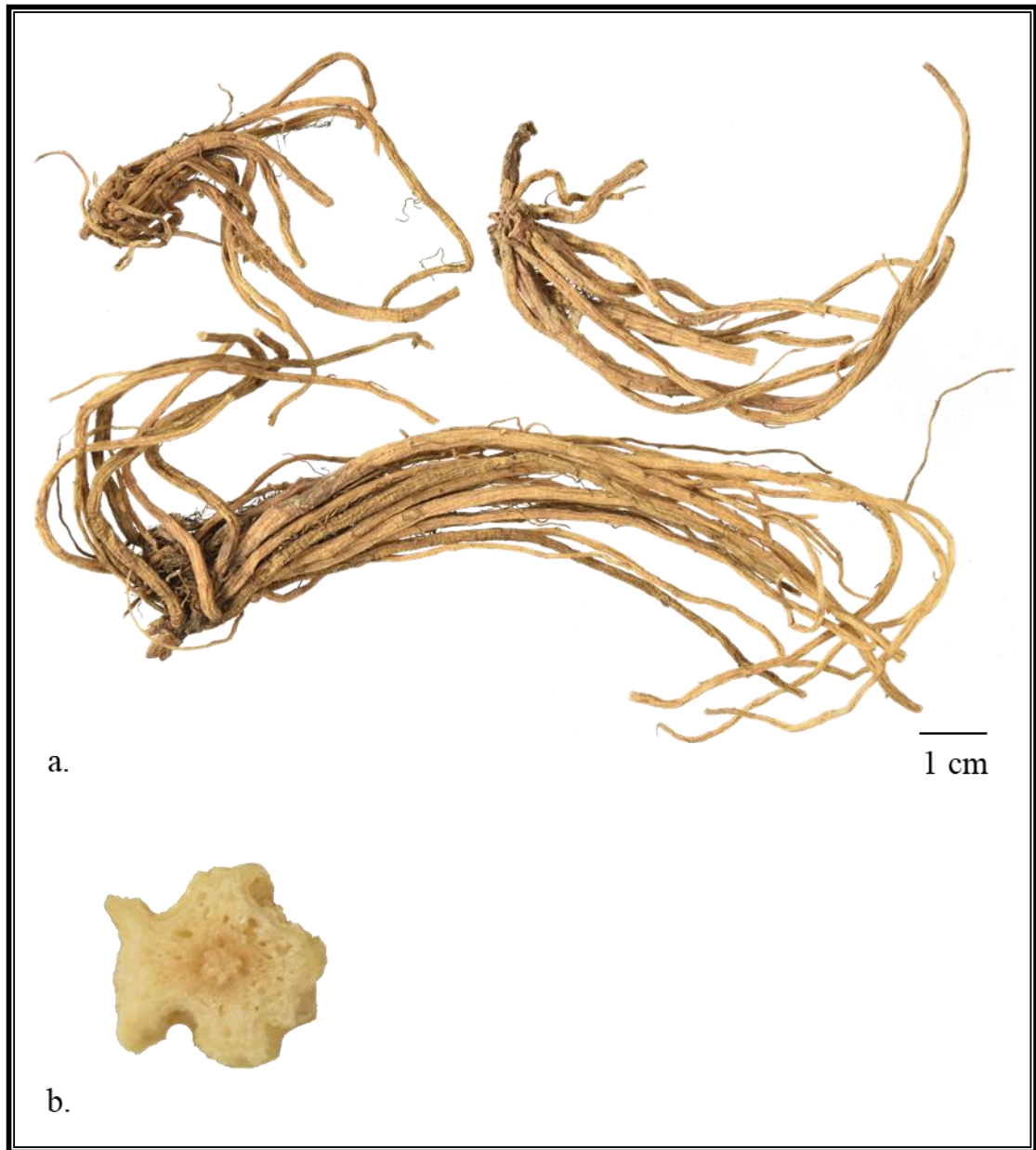


圖 1 龍膽藥材圖

a.藥材圖 b.根斷面放大圖

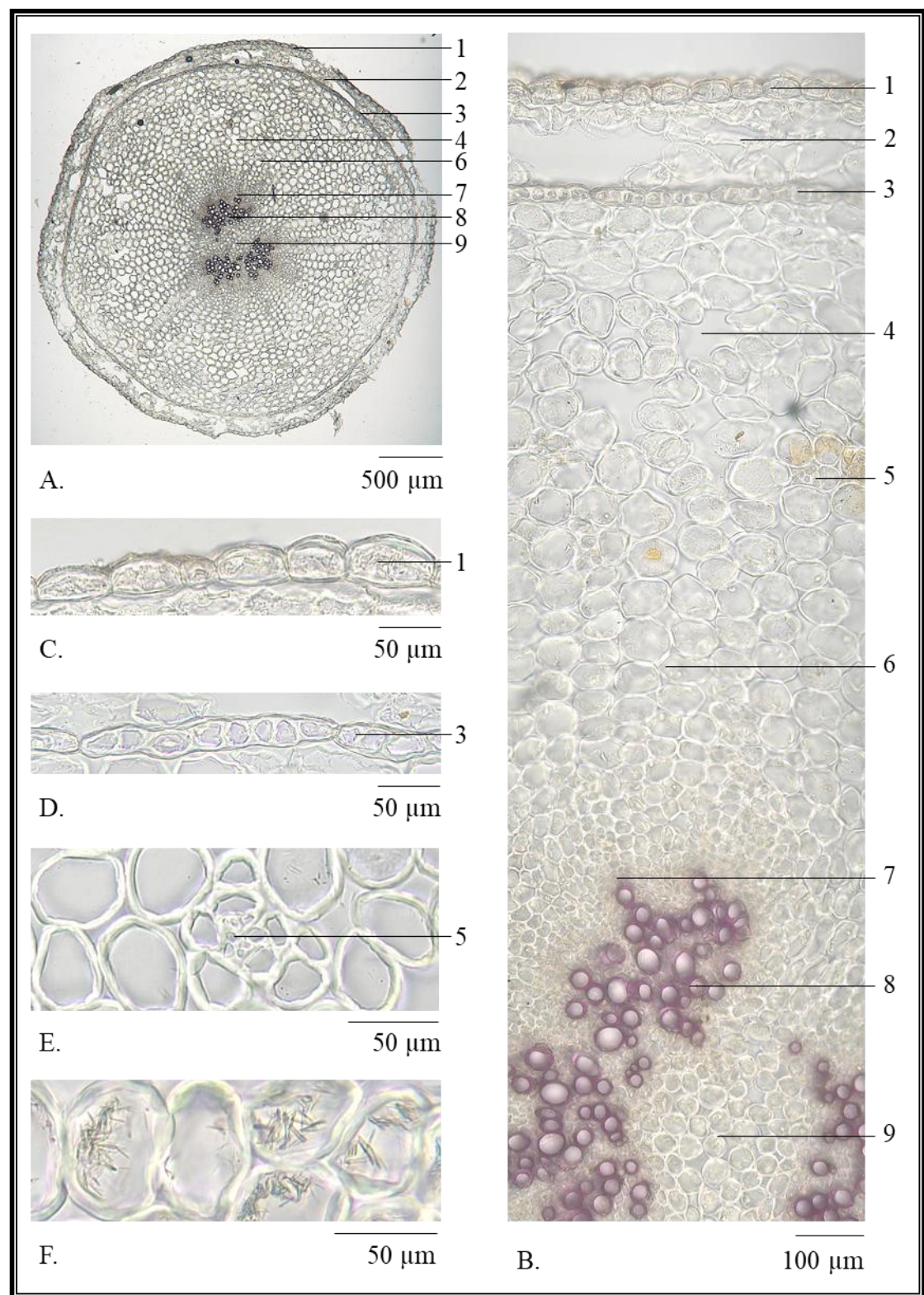


圖 2A 龍膽根橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.外皮層細胞 D.內皮層細胞 E.篩管群

F.草酸鈣針晶

1.外皮層 2.皮層 3.內皮層 4.裂隙 5.篩管群 6.韌皮部 7.形成層 8.木質部

9.髓

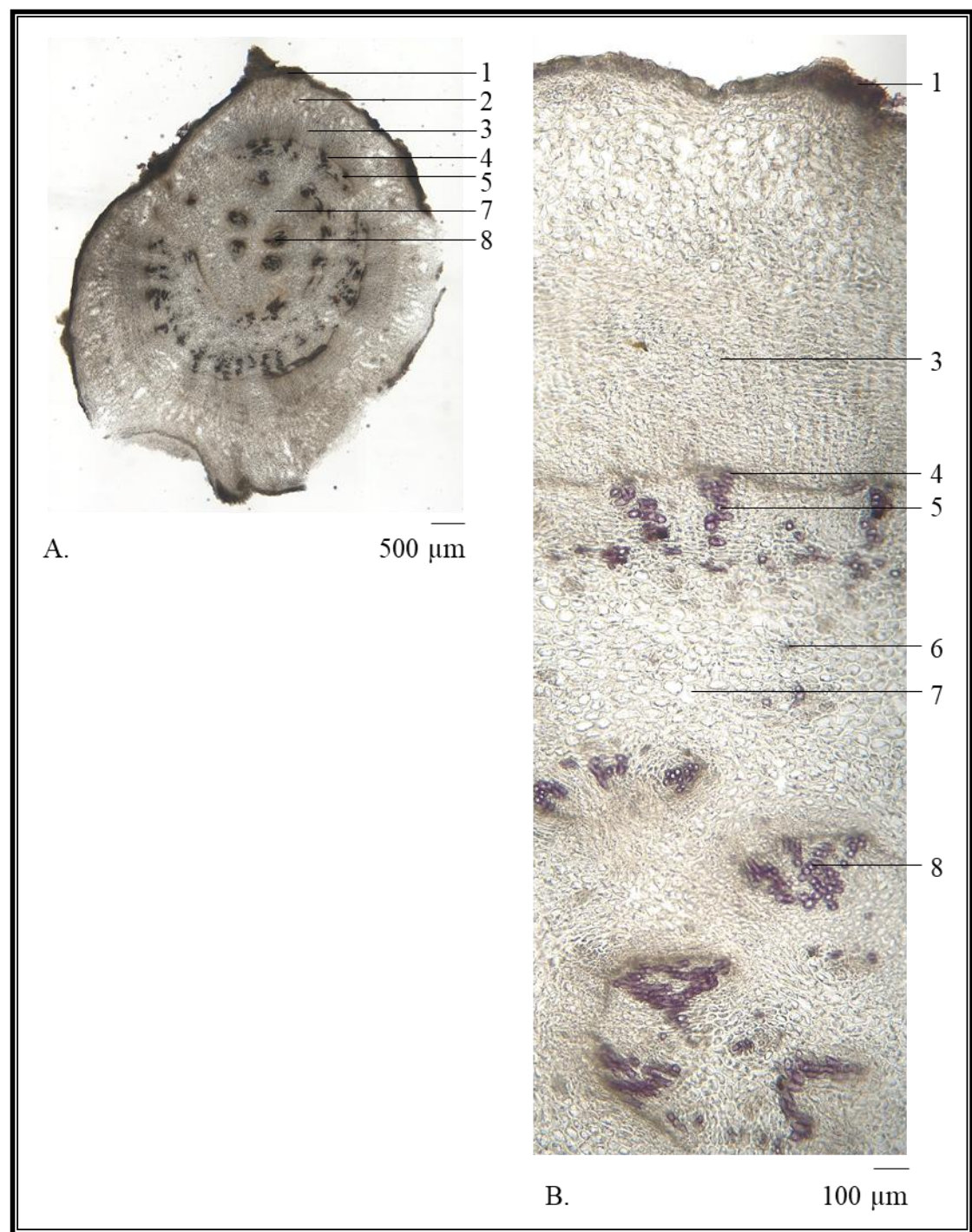


圖 2B 龍膽根莖橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖

1.木栓層 2.裂隙 3.次生韌皮部 4.形成層 5.次生木質部 6.髓周韌皮束
7.髓 8.髓維管束

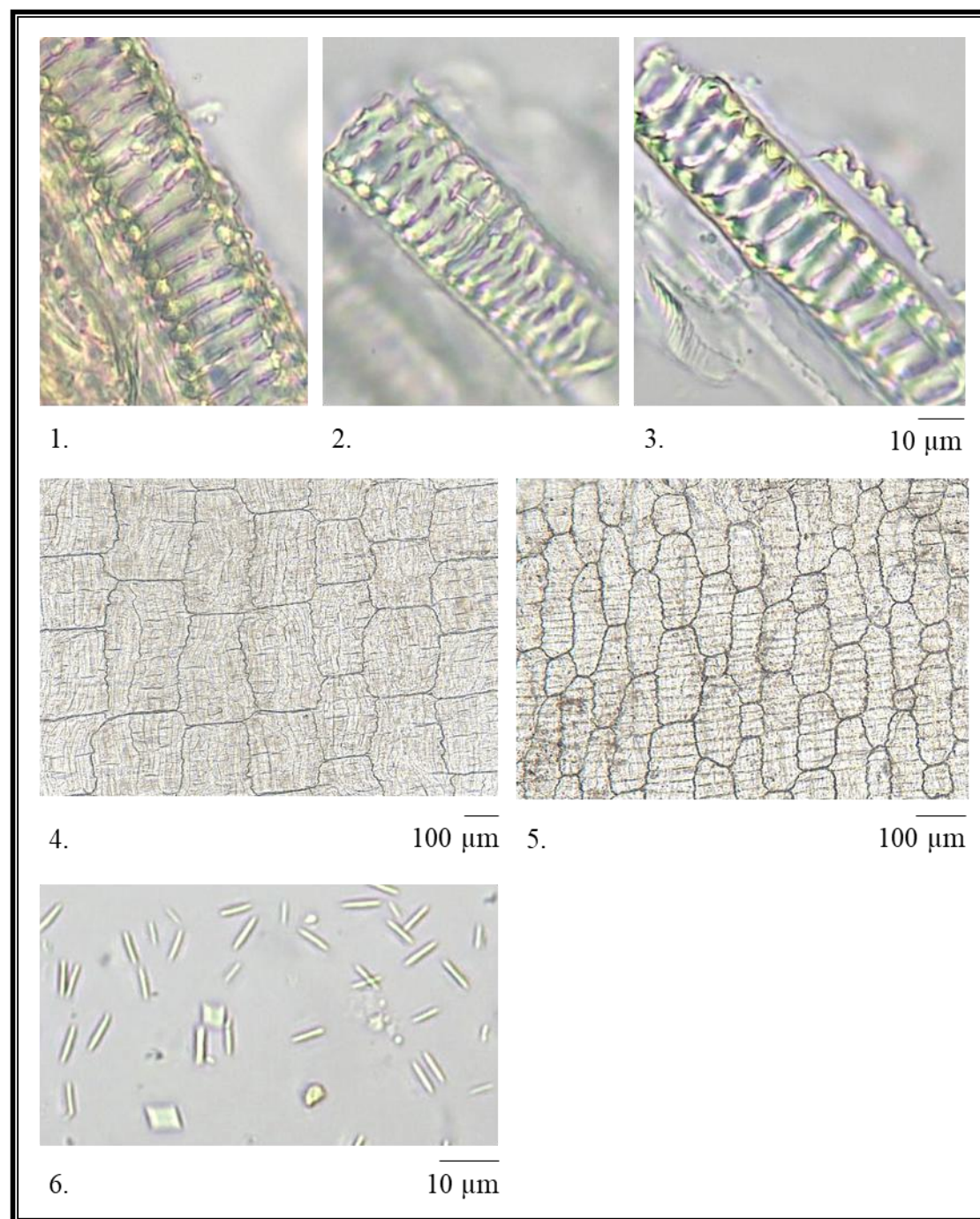


圖 3 龍膽粉末顯微特徵圖

- 1.階紋導管 2.網紋導管 3.螺紋導管 4.內皮層細胞表面觀(解離)
5.外皮層細胞表面觀(解離) 6.草酸鈣針晶及方晶

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。409~410 頁。
2. 張永勳、何玉鈴(主編)(2023)。臺灣中藥典圖鑑(第二版)。臺北市：衛生福利部，366 頁。
3. 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。364~365 頁。
4. 肖培根(主編)(2001)。新編中藥志第一卷。北京：化學工業出版社。294~300 頁。
5. 國家藥典委員會(2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。142~144 頁。
6. 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。68~69 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。121~124 頁。
8. 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。99~100 頁。
9. 樓之岑、秦波(主編)(1996)。常用中草藥品種整理和質量研究第三冊。福建科學技術出版社。437~478 頁。
10. 黃璐琦、匡海學、孟祥才(主編)(2020)。新編中國藥材學第一卷。中國醫藥科技出版社。120~123 頁。
11. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第二冊。廣東科技出版社。98~100 頁。
12. 陳代賢、郭月秋(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。169~182 頁。
13. 艾鐵民(主編)(2022)。中國藥典中藥材及原植物志。北京：中國醫藥科技出版社。173~176 頁。
14. 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。168~169 頁。
15. 王滿恩、趙昌(主編)(2019)。飲片驗收經驗。山西科學技術出版社。150~151 頁。
16. 陳士林、林余霖(主編)(2017)。中國藥用植物原色圖鑑第三冊。福建科學技術出版社。1200~1203、1206~1209、1212~1213。
17. 劉薇、李敏、李小芳、蔣淼、何曉燕(2009)。龍膽的形態組織學研究。成都中醫藥大學學報，2009，32(3)：81~84。
18. 張勉、付曉麗、王勝勇、齊輝(2005)。龍膽類藥材的數碼顯微鑑定。西北藥學雜誌，2005，20(6)：246~248。

龍膽(GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購置於臺灣各地龍膽藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters e2695 Separation Module，包含 Waters 2998、PDA 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) 對照標準品

龍膽苦苷(Gentiopicrin)購置於普思生物科技有限公司，純度 98.93%。CAS No:20831-76-9

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 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 50 mL，加熱迴流 15 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加入溶媒至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得進注量之龍膽苦苷最大波峰面積為最佳龍膽藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取時間評估

準確稱取本品粉末 5 份(過第 20 號篩網)約 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，分別加熱迴流 15、30、60、90 及 120 分鐘，冷卻後以 No. 1 濾紙過濾，取濾液移入 50 mL 之容量瓶中，加入甲醇至刻度。搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得每克重量之龍膽苦苷最大波峰面積為最佳龍膽藥材萃取時間。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品龍膽苦苷 4.5 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 含龍膽苦苷 450 µg 的對照標準品儲備溶液，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 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 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

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 µL，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算檢品溶液中龍膽苦苷的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取龍膽苦苷對照標準品儲備溶液適量(450 µg/mL)，以甲醇稀釋成含龍膽苦苷分別為 300、150、100、50 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

以龍膽苦苷為 100 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以龍膽苦苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售龍膽藥材粉末，依龍膽藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份龍膽藥材檢品溶液，進樣測定，以龍膽苦苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售龍膽藥材粉末，依龍膽藥材檢品溶液製備方法製備龍膽藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以龍膽苦苷的含量為指標，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

取已知龍膽苦苷含量的龍膽藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 4.0 mg 的龍膽苦苷，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 270 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(%)	水(%)
0	25	75
30	25	75

(十二) 臺灣市售龍膽藥材含量測定

取 10 批市售龍膽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 公式計算樣品龍膽苦苷的百分比含量。

(十三) 龍膽檢品之 UPLC 分析條件

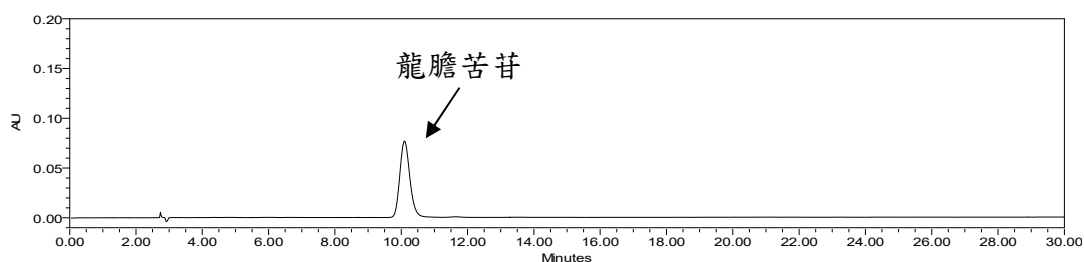
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 270 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	25	75
6	25	75

五、結果

(一) 對照標準品龍膽苦苷之 HPLC 層析

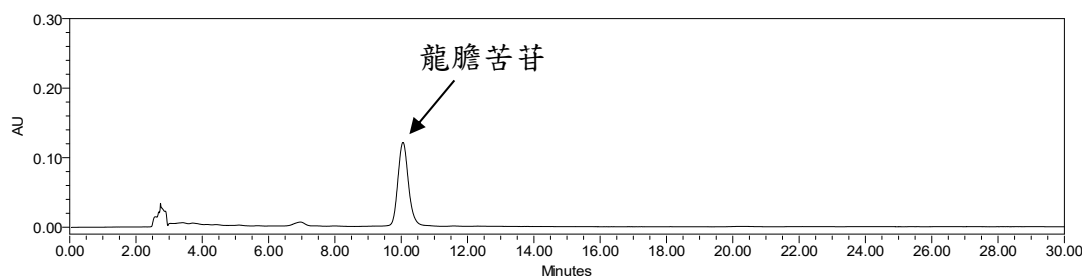
於滯留時間 10.1 分鐘處顯示龍膽苦苷對照標準品波峰(圖一)。



圖一、龍膽苦苷對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售龍膽藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 10.1 分鐘處顯示龍膽藥材檢品中龍膽苦苷波峰(圖二)。龍膽苦苷分離率(R)為 5.29，拖尾因子(T)為 1.16，均在系統適用性要求內。



圖二、市售龍膽藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，以加熱迴流萃取方式，每克藥材重量所得龍膽苦苷的波峰面積最大，顯示甲醇溶液為最佳萃取溶媒。

表一、不同萃取溶媒加熱迴流萃取評估

溶媒	龍膽苦苷波峰面積	最佳萃取
甲醇	3969566	√
75%甲醇	2838116	
50%甲醇	2487001	
乙醇	2575359	
75%乙醇	2805133	
50%乙醇	2530803	

(四) 最佳萃取時間評估

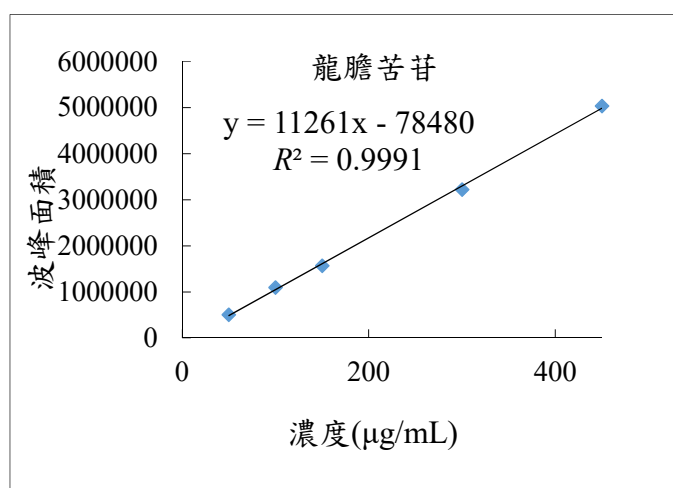
結果顯示加熱迴流萃取 30 分鐘，龍膽苦苷波峰面積最大，顯示加熱迴流萃取 30 分鐘為最佳萃取時間(表二)。

表二、龍膽藥材檢品萃取時間評估

甲醇	龍膽苦苷波峰面積	最佳萃取
加熱迴流 15 分鐘	2655156	
加熱迴流 30 分鐘	3580979	√
加熱迴流 60 分鐘	2897251	
加熱迴流 90 分鐘	2656273	
加熱迴流 120 分鐘	2637824	

(五) 對照標準品龍膽苦苷檢量線

經不同濃度龍膽苦苷(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 $y = 11261x - 78480$ ， $R^2 = 0.9991$ ，顯示濃度在 50–450 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、龍膽苦苷之檢量線圖

表三、龍膽苦苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
龍膽苦苷	50–450	$y = 11261x - 78480$	0.9991

(六) 精密度試驗

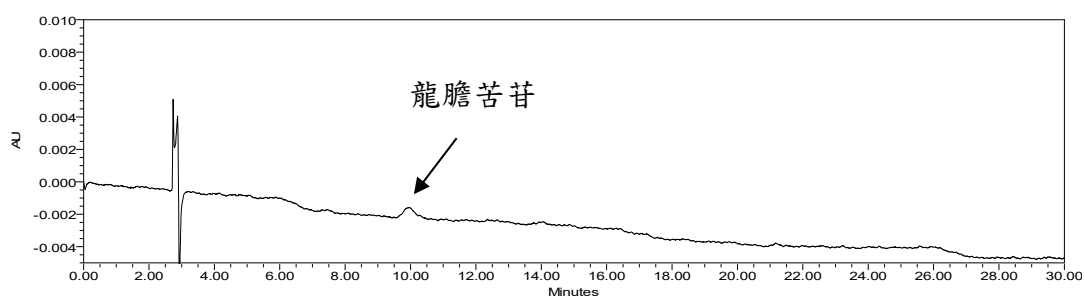
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，龍膽苦苷精密度之相對標準差為 0.03%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

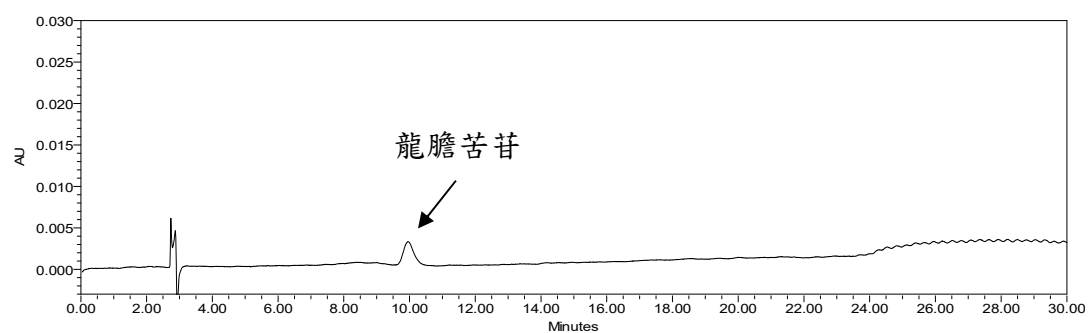
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，龍膽苦苷重複性之相對標準差為 1.13%，在系統適用性要求內。龍膽苦苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.71%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

龍膽苦苷偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、龍膽苦苷之偵測極限層析圖



圖五、龍膽苦苷之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	龍膽苦苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.03
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.10)	1.13
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.10)	0.71
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

龍膽苦苷平均添加回收率為 96.3%，相對標準偏差為 1.32% (表五)。

表五、龍膽苦苷添加回收率

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	0.2003	3.9372	4.0	7.7929	96.39	96.3	1.32
2	0.2003	3.9372	4.0	7.8480	97.77		
3	0.2002	3.9352	4.0	7.8133	96.95		
4	0.2001	3.9333	4.0	7.7642	95.77		
5	0.2003	3.9431	4.0	7.7197	94.42		

(十) 臺灣市售龍膽藥材含量測定

10 批龍膽藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，龍膽苦苷的含量為 2.272–4.465%。建議龍膽藥材指標成分龍膽苦苷的含量不得少於 2.4%。理論板數按龍膽苦苷波峰計算應不低於 3000 (實際值為 5644)。

表六、臺灣市售龍膽藥材檢品之龍膽苦苷的含量

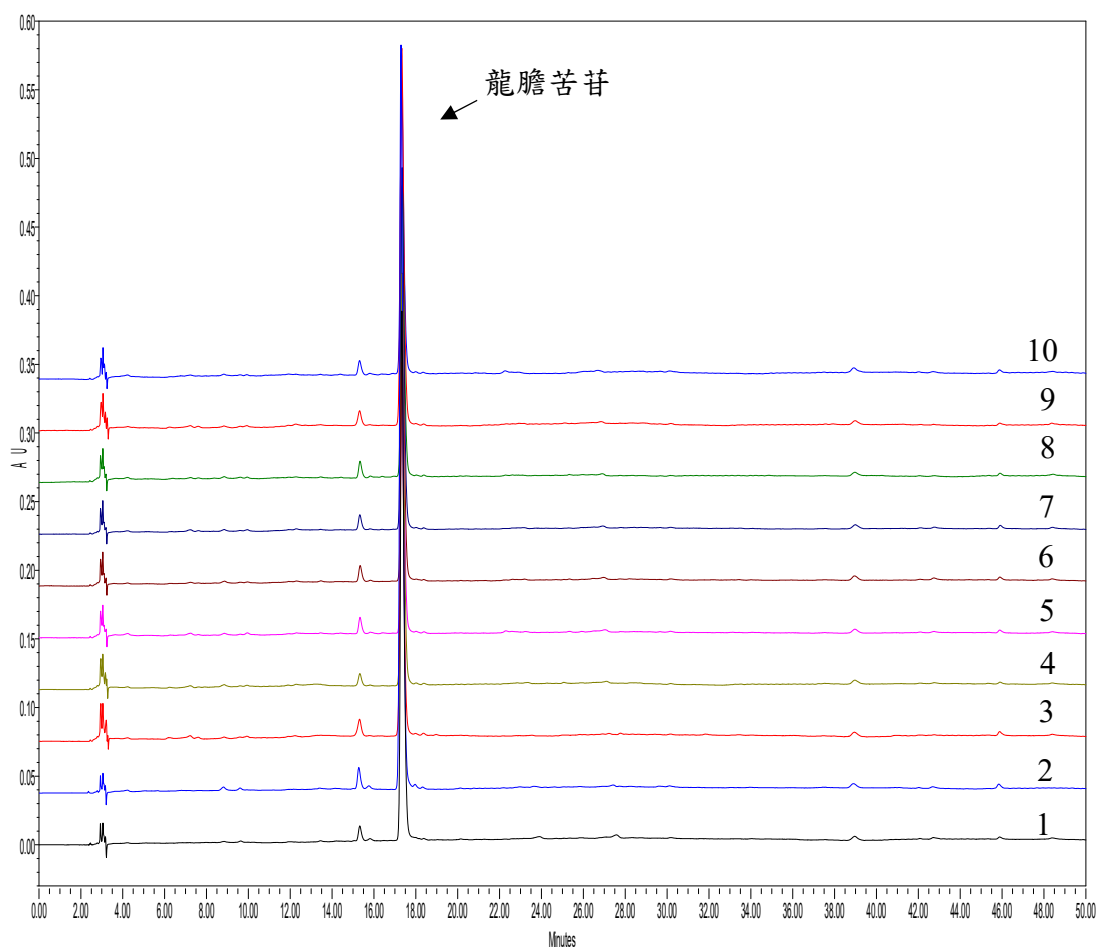
藥材編號 (No.)	龍膽苦苷含量 (%)	藥材編號 (No.)	龍膽苦苷含量 (%)
1 (NA)	3.940	6 (CB2)	2.430
2 (NC)	4.465	7 (CH)	3.340
3 (NRA)	2.902	8 (SK1)	2.272
4 (NX)	3.327	9 (SK4)	2.866
5 (CA)	2.692	10 (SUD)	2.469
平均值±S.D.	3.070 ± 0.704		

(十一) 龍膽藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售龍膽藥材檢品溶液各 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 270 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：

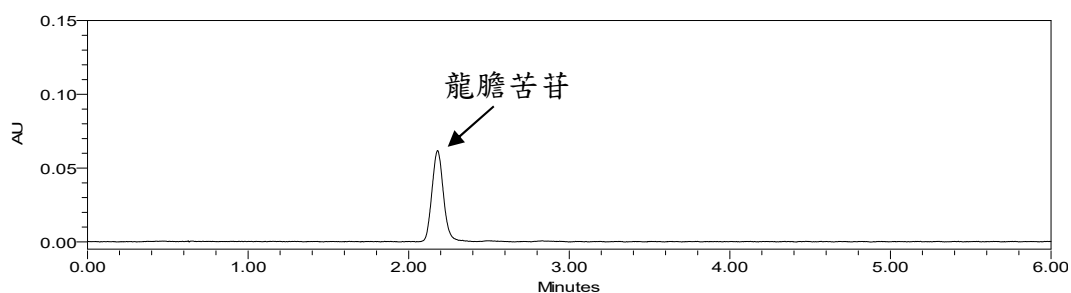
時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	8	92
25	45	55
35	48	52
45	65	35
50	90	10



圖六、10 批龍膽藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品龍膽苦苷之 UPLC 層析

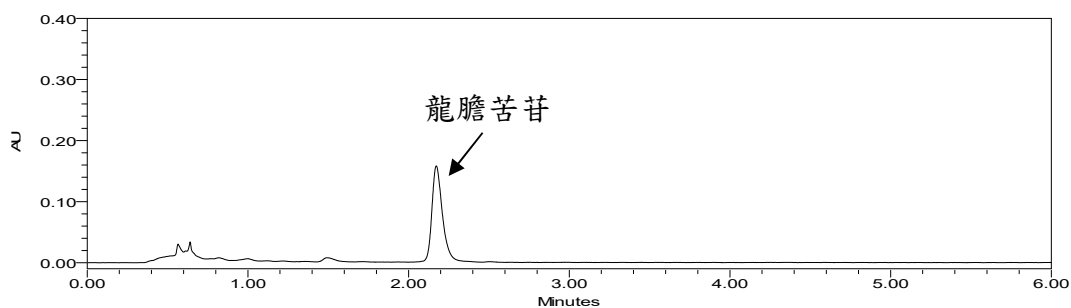
於滯留時間 2.18 分鐘處顯示龍膽苦苷對照標準品波峰(圖七)。



圖七、龍膽苦苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售龍膽藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.17 分鐘處顯示龍膽藥材檢品中龍膽苦苷波峰(圖八)。

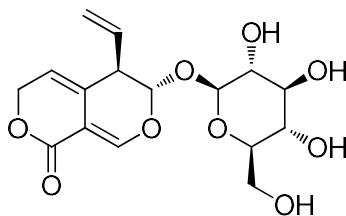


圖八、市售龍膽藥材檢品之 UPLC 層析圖

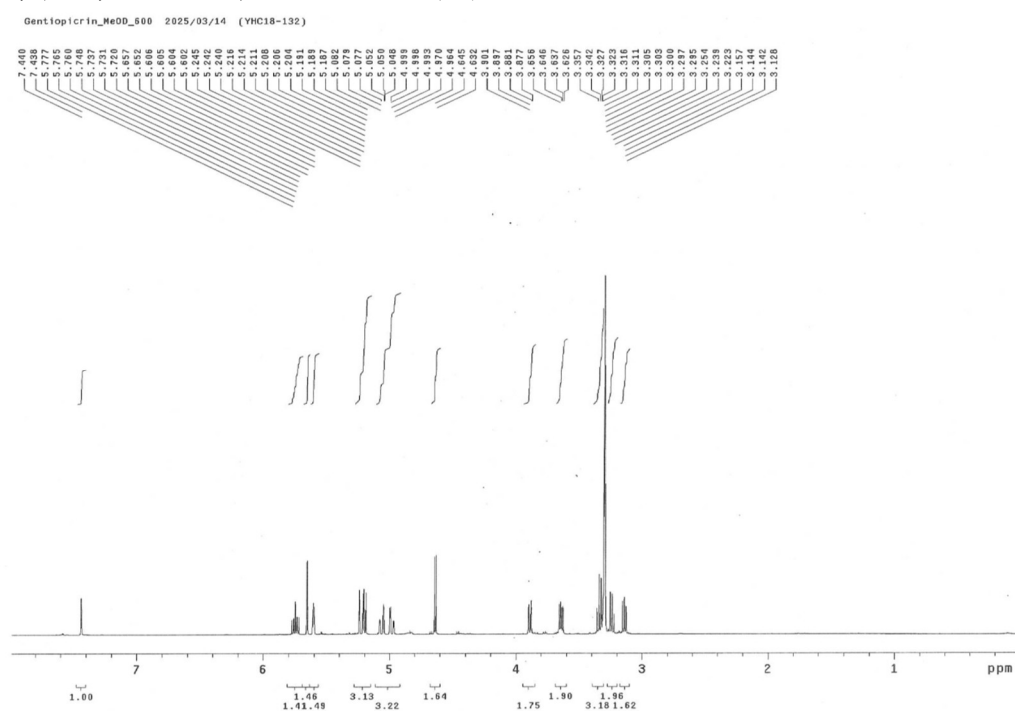
(十四) 龍膽苦苷的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{16}H_{20}O_9$ ；分子量：356.32；熔點：191 °C；白色粉末。

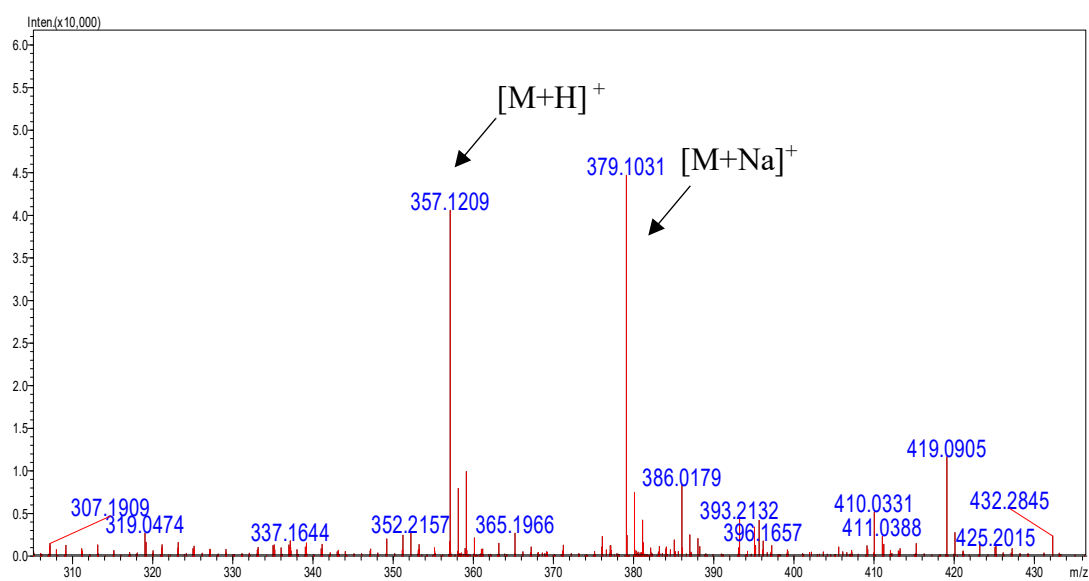
(十五) 龍膽苦苷的結構



(十六) 龍膽苦苷的 ^1H NMR 圖譜

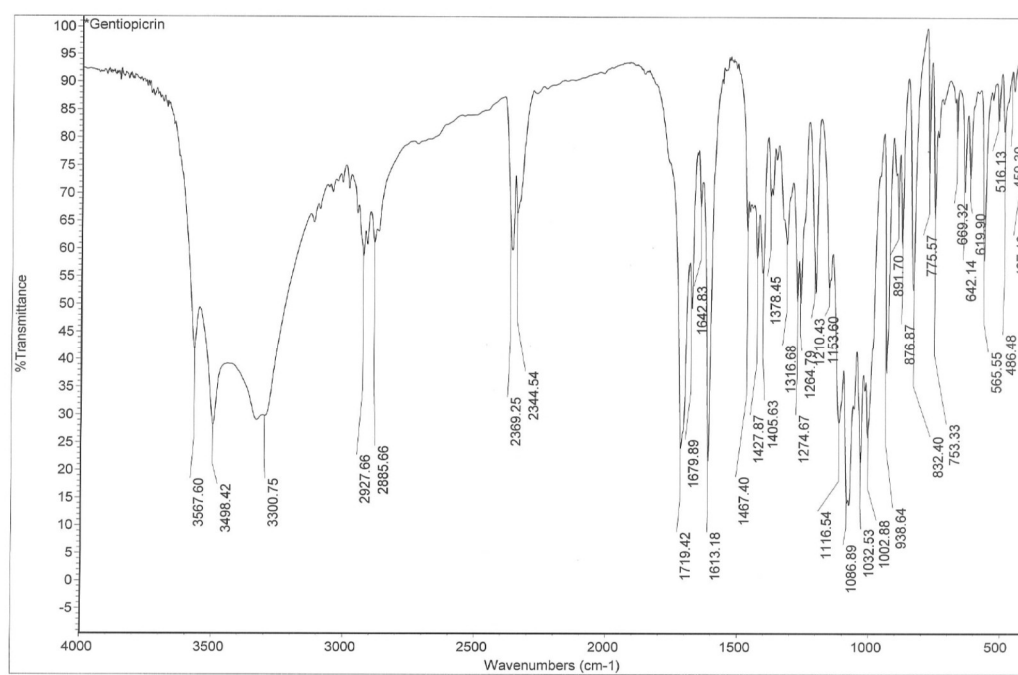


(十八) 龍膽苦苷的 ESI-MS 圖譜



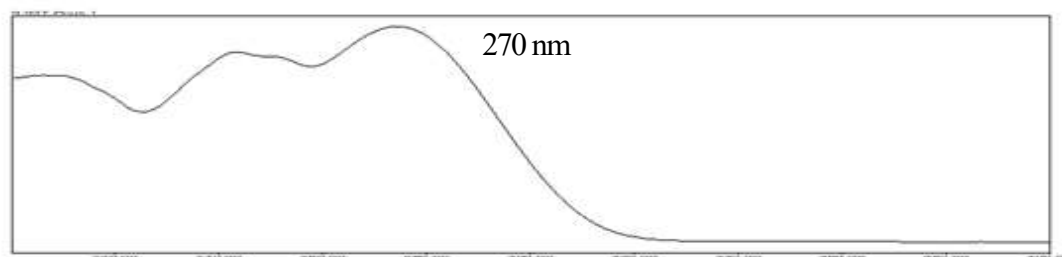
圖十一、龍膽苦苷的 ESI-MS 圖譜

(十九) 龍膽苦苷的 FTIR 圖譜



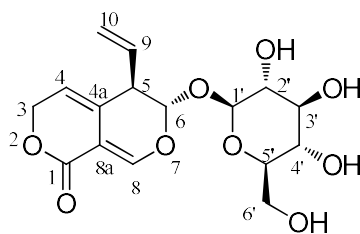
圖十二、龍膽苦苷的 FTIR 圖譜

(二十) 龍膽苦苷的 UV 圖譜



圖十三、龍膽苦苷的 UV 圖譜

(二十一) 龍膽苦苷的氫、碳化學位移



龍膽苦苷

表七、龍膽苦苷氫、碳化學位移(CD₃OD)

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1,	-	166.3
3	4.98 (dd, 17.4, 3.6), 5.06 (dd, 17.4, 2.4)	70.9
4	5.60-5.61 (m)	117.2
4a	-	127.0
5	3.39-3.32 (m)	46.6
6	5.65 (d, 3.0)	98.5
8	7.44 (d, 1.2)	150.6
8a	-	105.0
9	5.72-5.78 (m)	135.0
10	5.19-5.25 (m)	118.5
1'	4.64 (d, 7.2)	100.2
2'	3.14 (dd, 7.2, 2.4)	74.6
3'	3.33 (dd, 8.0, 2.4)	78.0
4'	3.24 (t, 8.0)	71.5
5'	3.30-3.32 (m)	78.4
6'	3.64 (dd, 12.0, 6.0), 3.89 (dd, 12.0, 2.4)	62.8

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

龍膽

生藥名：GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Chinese Gentian Root

基 原：本品為龍膽科 Gentianaceae 植物龍膽 *Gentiana scabra* Bunge 之乾燥根及根莖。

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 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》

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 20 mL，加熱迴流 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第二冊》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 45 分鐘，過濾，濾液濃縮至少量，加甲醇定量至 2 mL，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取龍膽苦苷(Gentiopicrosin)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》

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》✓

——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第二冊》

——乙酸乙酯：甲醇：水 (20：2：1) 二次展開

(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)下檢視。

(八) Spike 配製 取採用建議萃取方法之檢品溶液9，與對照標準品溶液(2：5)混合，點注量 7 μL。

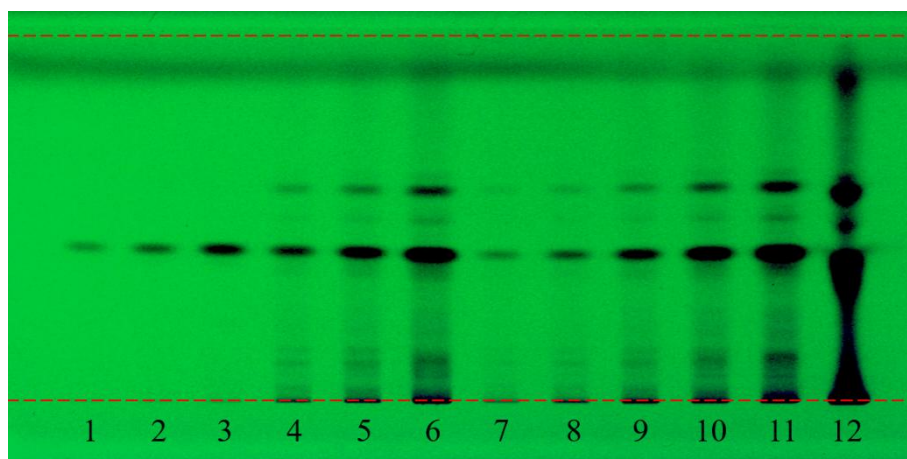
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：114/05/05

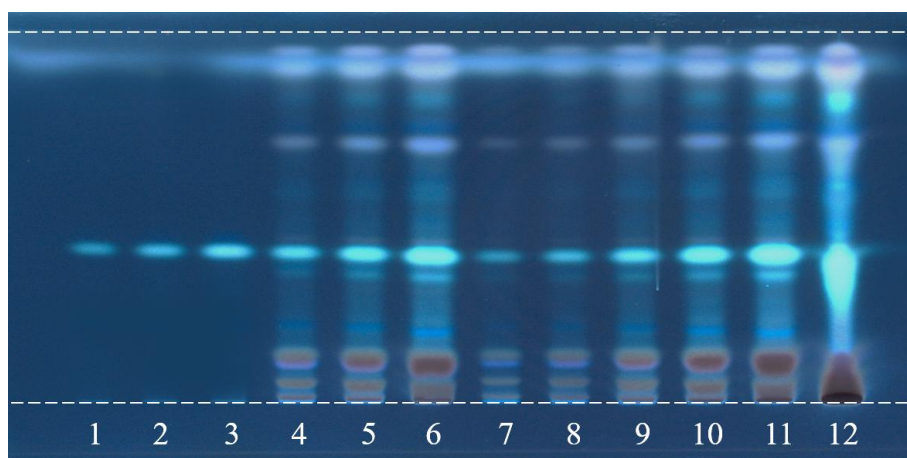
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出龍膽苦苷，因濃度適中，方法簡便，故採用《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】。

建議點注量：龍膽苦苷 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

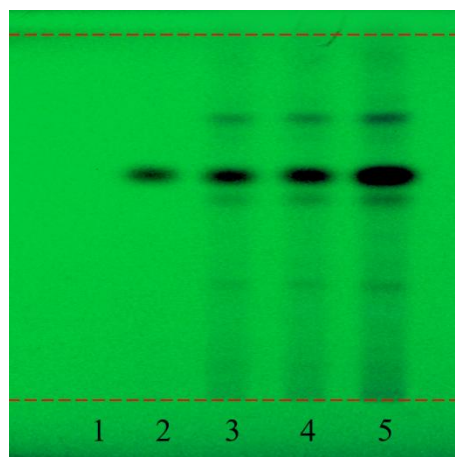
實驗日期：114/05/05

相對溼度(RH)：63%

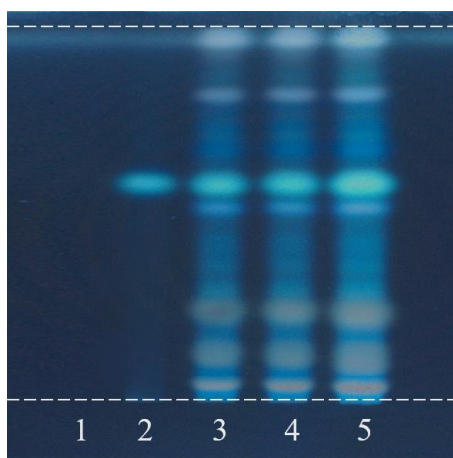
溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦
苷 R_f 值為 0.58)



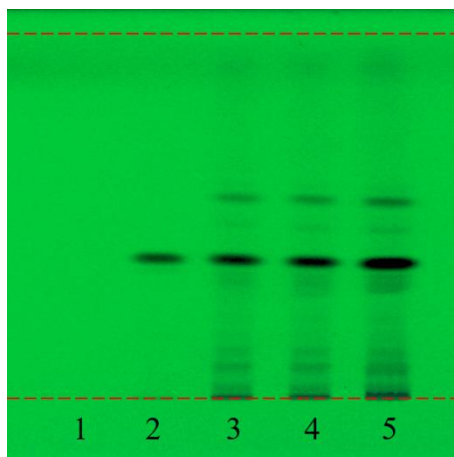
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外
光(365 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.58)



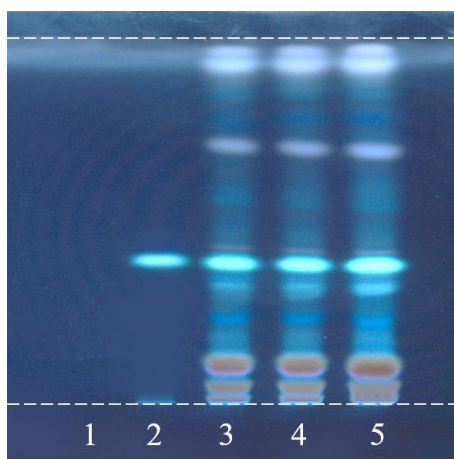
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.39)

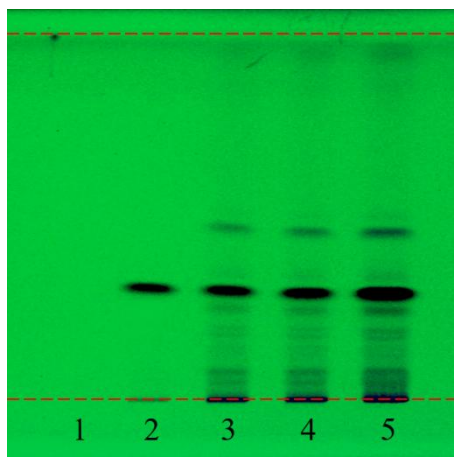


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.39)

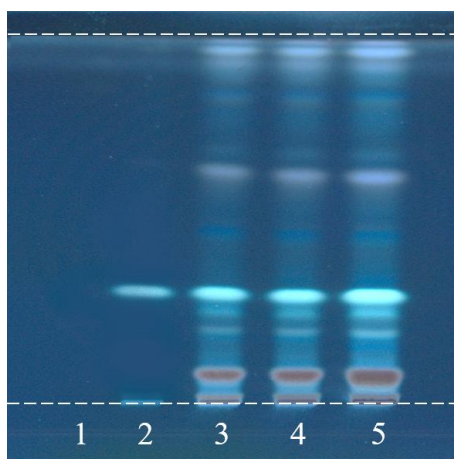


【展開劑 3】《香港中藥材標準第二冊》——乙酸乙酯：甲醇：水 (20：2：1) 二次展開

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.29)



【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(龍膽苦苷 R_f 值為 0.29)



1：Blank	3，4：檢品溶液 9
2：龍膽苦苷	5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以《中華人民共和國藥典》之【展開劑 2】展開龍膽苦苷之 R_f 值適中，分離佳，且展開速度快，故採用《中華人民共和國藥典》【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：114/05/05

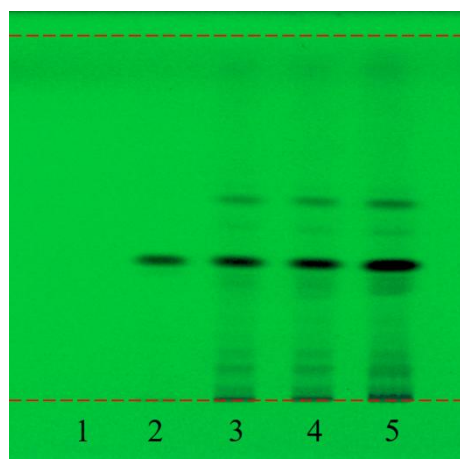
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

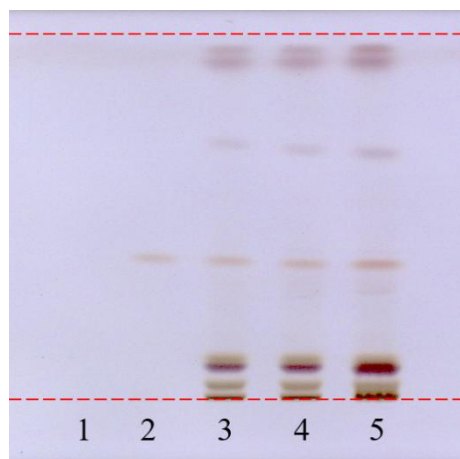
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



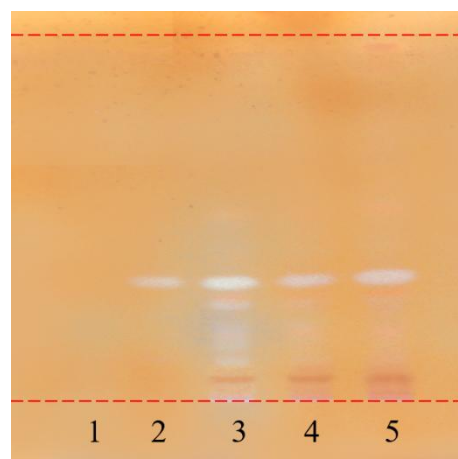
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 10%硫酸/乙醇顯色後可見光檢出



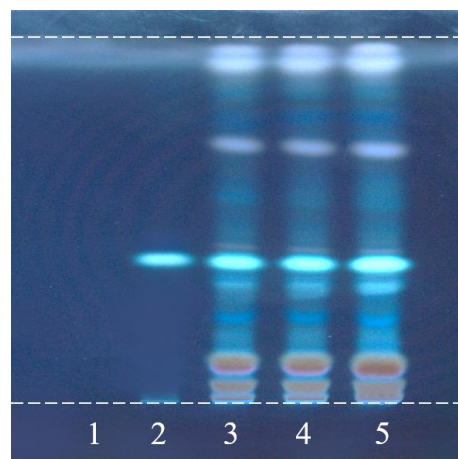
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

— HPTLC 茴香醛-硫酸試劑顯色後紫外光(365nm)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 9

2：龍膽苦苷

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)檢視顯示有較多較明顯分離之條帶。

五、十批龍膽藥材樣品檢測

實驗日期：114/05/05

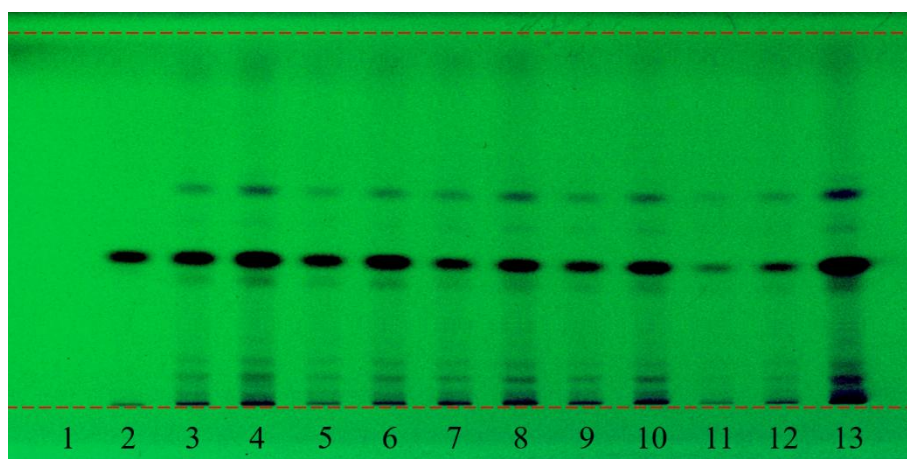
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

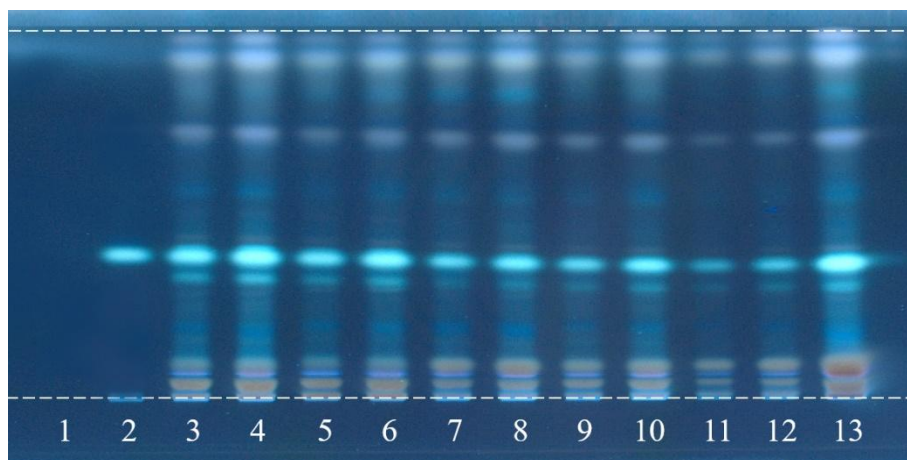
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

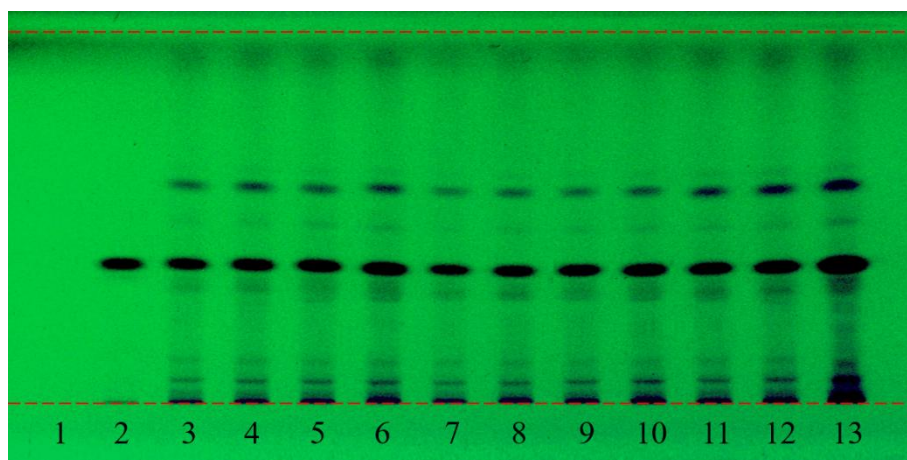


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NRA)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (NX)
3, 4	檢品溶液 1 (NA)	11, 12	檢品溶液 5 (CA)
5, 6	檢品溶液 2 (NC)	13	Spike (檢品溶液 9)

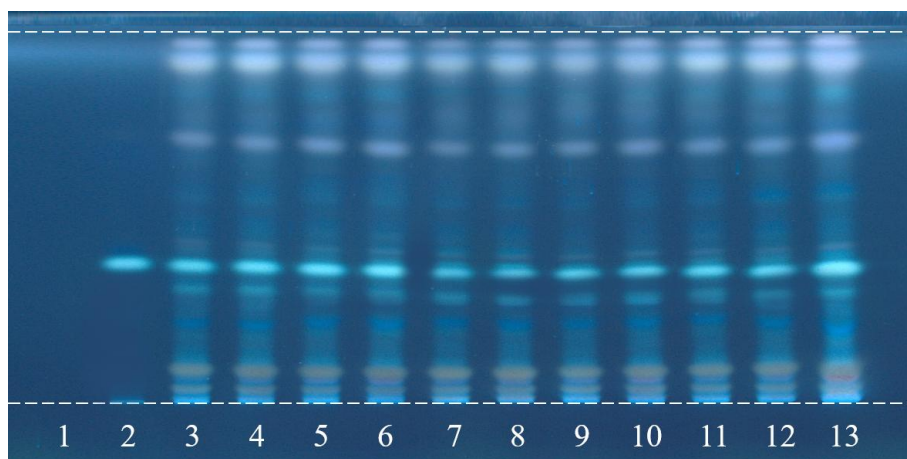
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 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 (SK1)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SK4)
3, 4	檢品溶液 6 (CB2)	11, 12	檢品溶液 10 (SUD)
5, 6	檢品溶液 7 (CH)	13	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：以《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】方式及《中華人民共和國藥典》之【展開劑 2】分離與檢出龍膽苦苷較佳，以紫外光(254 nm)或以 10%硫酸/乙醇顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。

龍膽飲片(GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA)

一、材料

購置於臺灣各地龍膽飲片共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Waters e2695 Separation Module，包含 Waters 2998、PDA 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) 對照標準品

龍膽苦苷(Gentiopicrin)購置於普思生物科技有限公司，純度 98.93%。CAS No:20831-76-9

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

龍膽飲片最佳萃取溶媒同龍膽藥材。

(二) 最佳萃取次數評估

龍膽飲片最佳萃取次數同龍膽藥材。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品龍膽苦苷 4.5 mg，加 10 mL 的甲醇製成每 1 mL 龍膽苦苷 450 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至龍膽苦苷 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 0.5 g，置 100 mL 圓底瓶中，準確加入甲醇 50 mL，加熱迴流 30 分鐘，冷卻後以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 50 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

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龍膽的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取龍膽苦苷對照標準品儲備溶液適量(450 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含龍膽苦苷分別為 300、150、100、50 $\mu\text{g/mL}$ 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

以龍膽苦苷為 100 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以龍膽苦苷的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售龍膽飲片粉末，依龍膽飲片檢品溶液製備方法平行製備 5 份龍膽飲片檢品溶液，進樣測定，以龍膽苦苷的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售龍膽飲片粉末，依龍膽飲片檢品溶液製備方法製備龍膽飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以龍膽苦苷的含量為指標，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

取已知龍膽苦苷含量的龍膽藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入 4.0 mg 的龍膽苦苷，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 270 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(%)	水(%)
0	25	75
30	25	75

(十二) 臺灣市售龍膽飲片含量測定

取 10 批市售龍膽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 公式計算樣品龍膽苦苷的百分比含量。

(十三) 龍膽檢品之 UPLC 分析條件

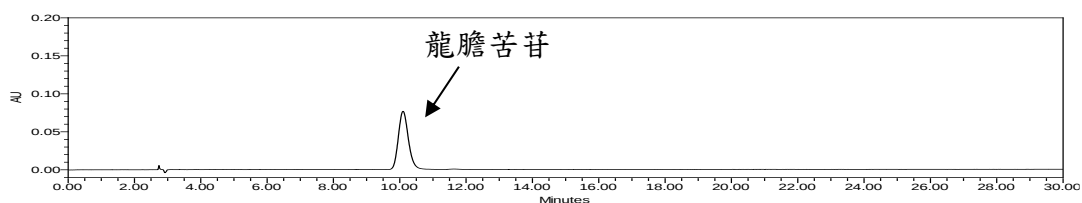
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 270 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	25	65
6	25	65

五、結果

(一) 對照標準品龍膽苦苷之 HPLC 層析

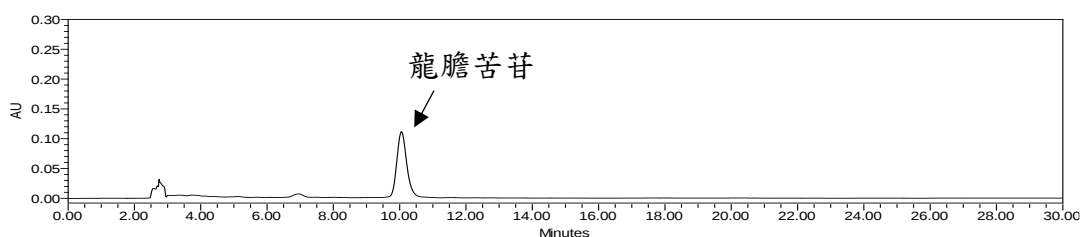
於滯留時間 10.1 分鐘處顯示龍膽苦苷對照標準品波峰(圖一)。



圖一、綠原酸對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售龍膽飲片檢品之 HPLC 層析

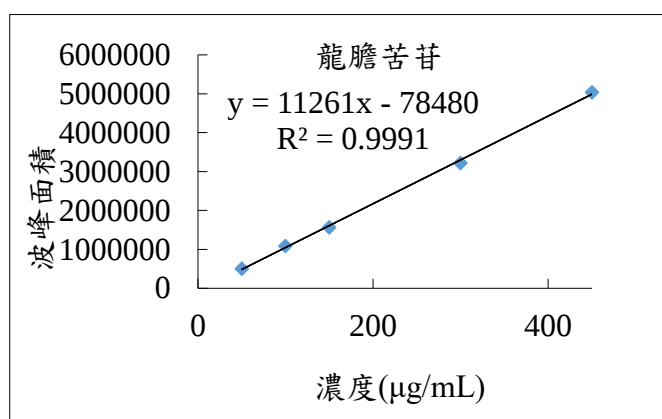
於滯留時間 10.1 分鐘處顯示龍膽飲片檢品中龍膽苦苷波峰(圖二)。龍膽苦苷分離率(R) 5.15，拖尾因子(T)為 1.17，均在系統適用性要求內。



圖二、市售龍膽飲片檢品之 HPLC 層析圖

(三) 對照標準品龍膽苦苷檢量線

經不同濃度龍膽苦苷(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 $y = 11261x - 78480$ ， $R^2 = 0.9991$ ，顯示濃度在 50–450 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、綠原酸之檢量線圖

表一、龍膽苦苷之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
龍膽苦苷	50–450	$y = 11261x - 78480$	0.9991

(六) 精密度試驗

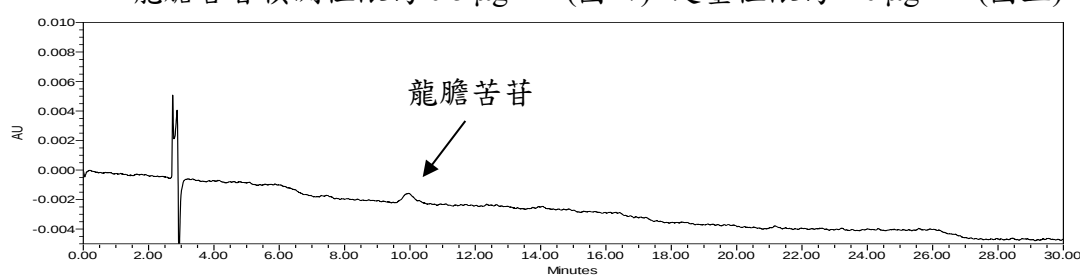
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，龍膽苦苷精密度之相對標準差為 0.03%，在系統適用性要求內。

(七) 重複性與穩定性試驗

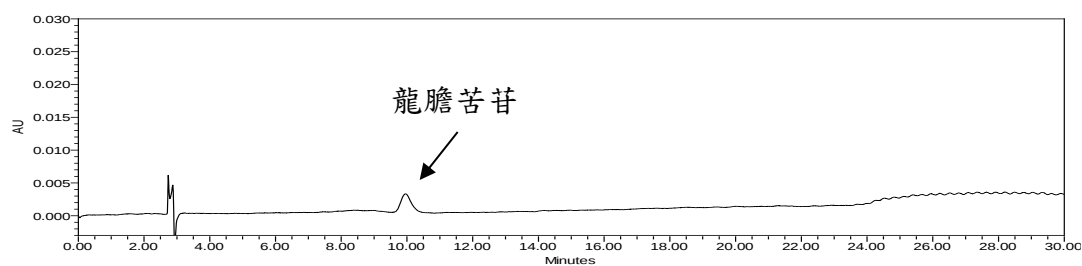
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，龍膽苦苷重複性之相對標準差為 1.06%，在系統適用性要求內。龍膽苦苷在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.21%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

龍膽苦苷偵測極限為 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 2.0 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、龍膽苦苷之偵測極限層析圖



圖五、龍膽苦苷之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

檢測項目	龍膽苦苷	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.03
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	0.21
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.5)	1.06
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

龍膽苦苷平均添加回收率為 92.1%，相對標準偏差為 1.93% (表三)。

表三、龍膽苦苷添加回收率

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	0.2006	3.9693	4.0	7.7460	94.42	92.1	1.93
2	0.2009	3.9752	4.0	7.5798	90.12		
3	0.2002	3.9614	4.0	7.5890	90.69		
4	0.2009	3.9752	4.0	7.6437	91.71		
5	0.2005	3.9673	4.0	7.6945	93.18		

(十) 臺灣市售龍膽飲片含量測定

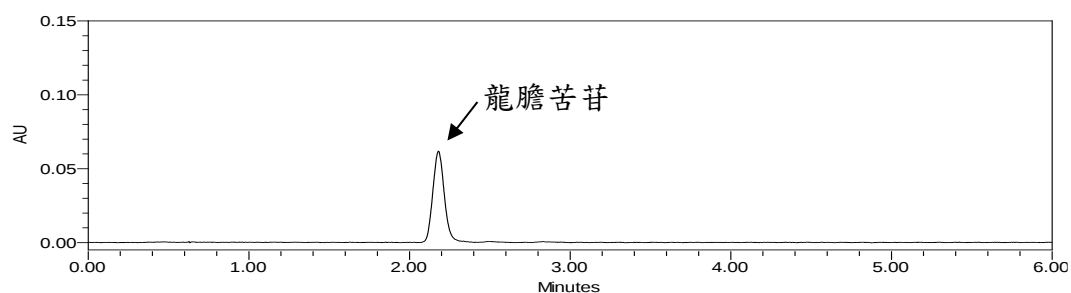
10 批龍膽飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，龍膽苦苷的含量為 1.665–2.862%。建議龍膽飲片指標成分龍膽苦苷的總含量不得少於 2.4%。理論板數按龍膽苦苷波峰計算應不低於 3000 (實際值為 5766)。

表四、臺灣市售龍膽飲片檢品之龍膽苦苷的含量

飲片編號 (No.)	龍膽苦苷含量 (%)	藥材編號 (No.)	龍膽苦苷含量 (%)
1 (NF)	2.248	6 (SK2)	2.287
2 (NJ)	1.728	7 (SK5)	2.330
3 (NRB)	1.863	8 (SUA)	2.862
4 (CB)	2.706	9 (SUB)	1.665
5 (CE)	2.575	10 (SUC)	1.666
平均值±S.D.	2.193±0.443		

(十一) 對照標準品龍膽苦苷之 UPLC 層析

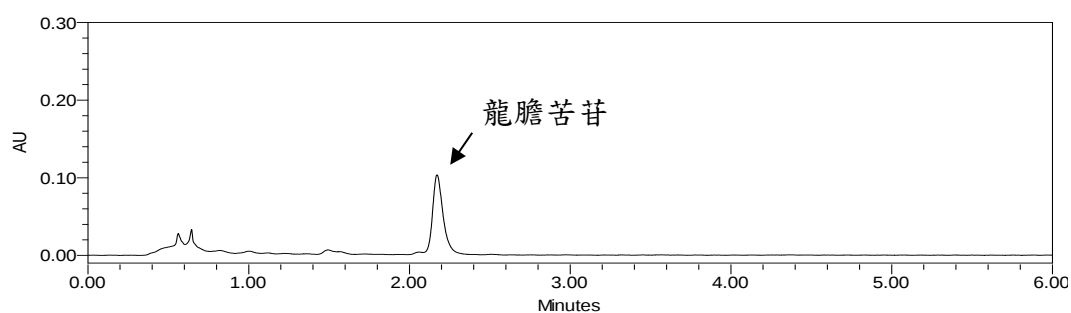
於滯留時間 2.18 分鐘處顯示龍膽苦苷對照標準品波峰(圖六)。



圖六、龍膽苦苷對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十二) 市售龍膽飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.17 分鐘處分別顯示龍膽飲片檢品中龍膽苦苷波峰(圖七)。



圖七、市售龍膽飲片檢品之 UPLC 層析圖

龍膽飲片

生藥名：GENTIANAE RADIX ET RHIZOMA

英文名：Chinese Gentian Root

基 原：本品為龍膽科 Gentianaceae 植物龍膽 *Gentiana scabra* Bunge 之乾燥根及根莖。

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 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》

——取本品粉末 0.5 g，加甲醇 20 mL，加熱迴流 15 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

【萃取方法 3】《香港中藥材標準第二冊》

——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 45 分鐘，過濾，濾液濃縮至少量，加甲醇定量至 2 mL，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取龍膽苦苷(Gentiopicrosin)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》

——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》✓

——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【展開劑 3】《香港中藥材標準第二冊》

——乙酸乙酯：甲醇：水 (20：2：1) 二次展開

(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)下檢視。

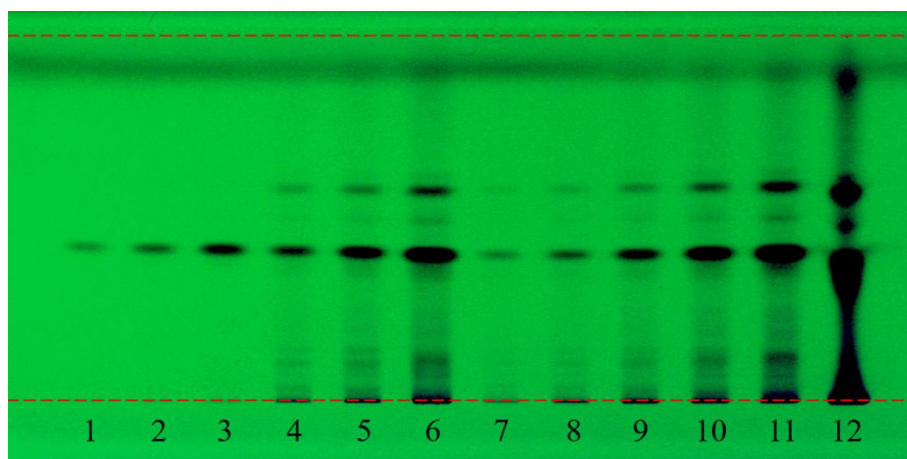
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：114/05/05

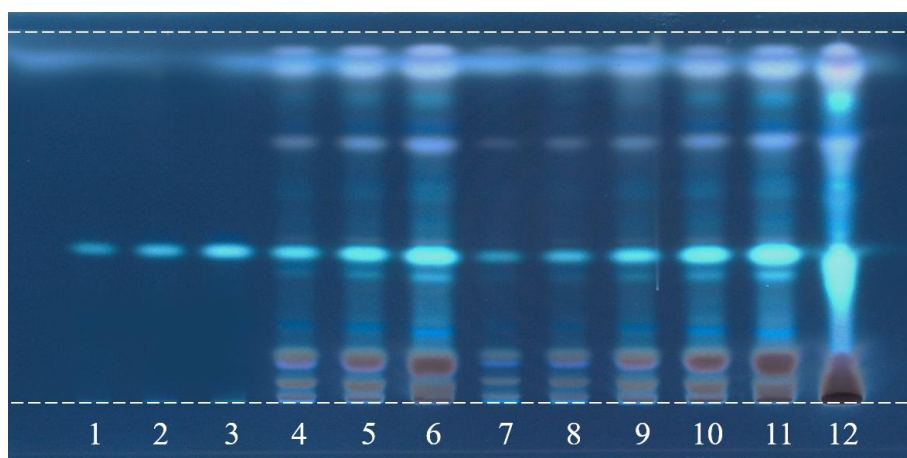
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出



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

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出龍膽苦苷，因濃度適中，方法簡便，故採用《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】。

建議點注量：龍膽苦苷 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 1】2 μ L。

三、溶媒系統選擇

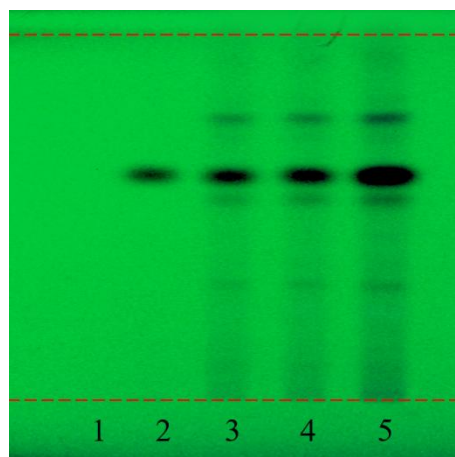
實驗日期：114/05/05

相對溼度(RH)：63%

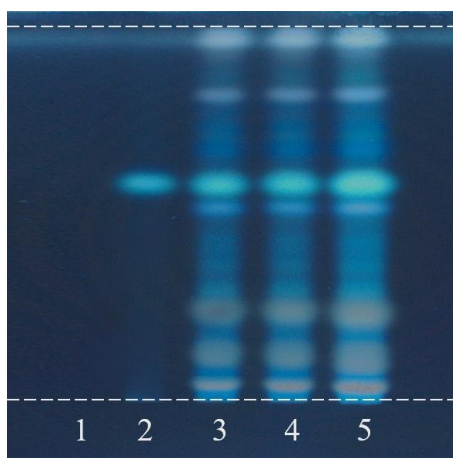
溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典第四版》——正丁醇：無水乙酸：水 (7：1：2)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.58)



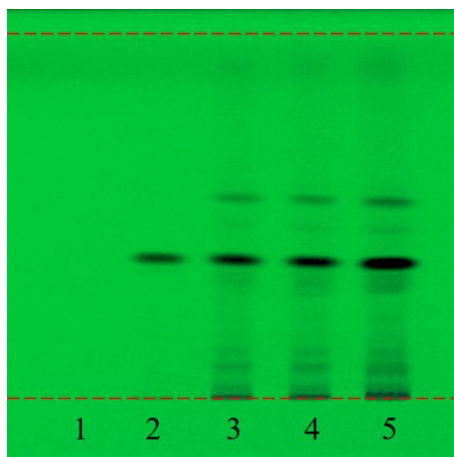
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.58)



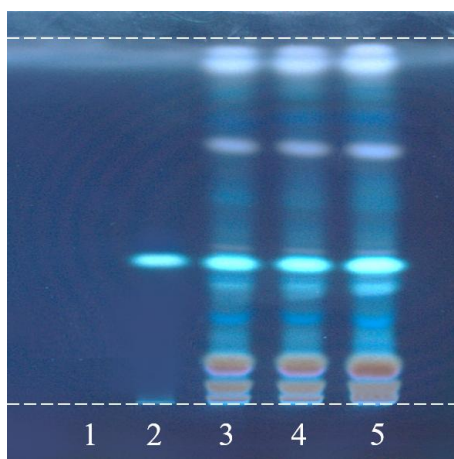
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

✓

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.39)

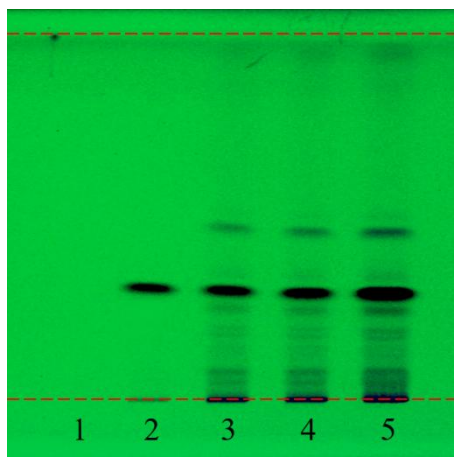


【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.39)

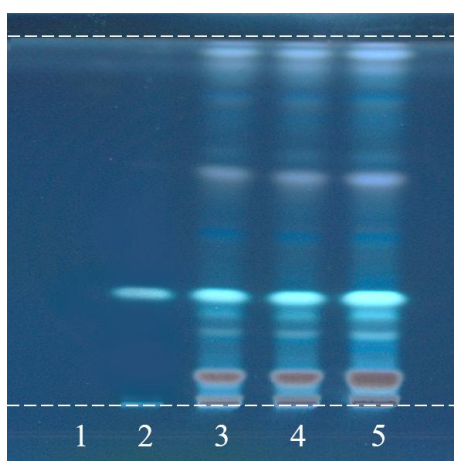


【展開劑 3】《香港中藥材標準第二冊》——乙酸乙酯：甲醇：水 (20：2：1) 二次展開

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(龍膽苦苷 R_f 值為 0.29)



【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(龍膽苦苷 R_f 值為 0.29)



1：Blank	3，4：檢品溶液 1
2：龍膽苦苷	5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，以《中華人民共和國藥典》之【展開劑 2】展開龍膽苦苷之 R_f 值適中，分離佳，且展開速度快，故採用《中華人民共和國藥典》【展開劑 2】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：114/05/05

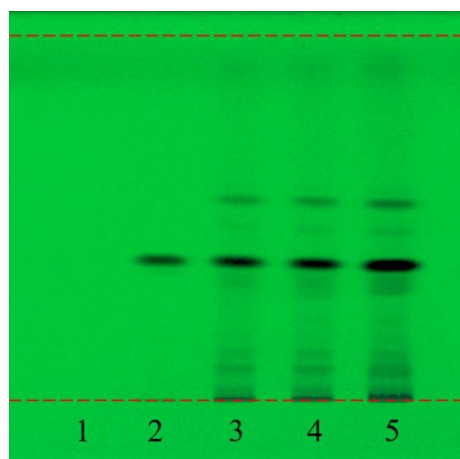
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

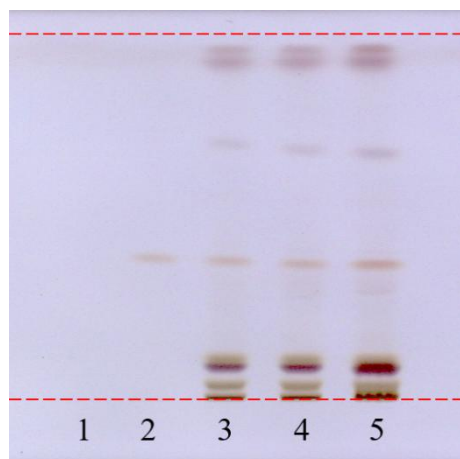
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 紫外光(254 nm)檢出✓



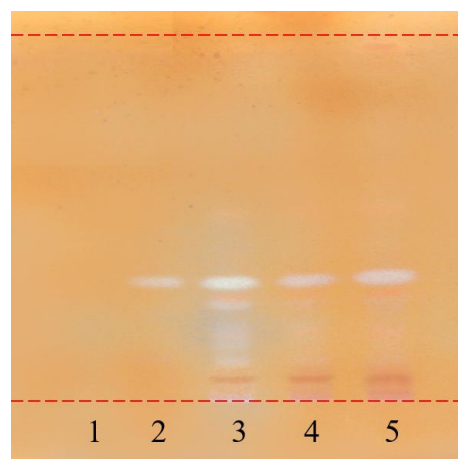
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後可見光檢出



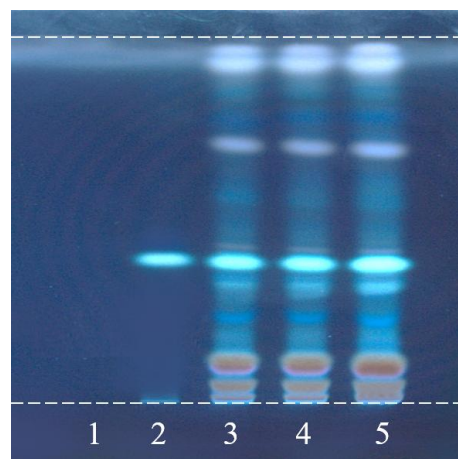
【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》

—HPTLC 茴香醛-硫酸試劑顯色後紫外光(365nm)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
2：龍膽苦甘
3，4：檢品溶液 1
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)檢視顯示有較多較明顯分離之條帶。

五、十批龍膽飲片樣品檢測

實驗日期：114/05/05

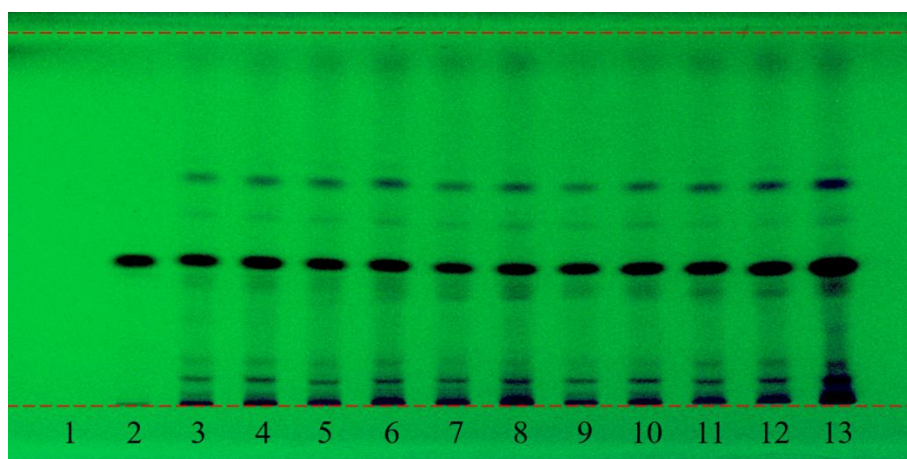
相對溼度(RH)：63%

溫度(RT)：24.1 °C

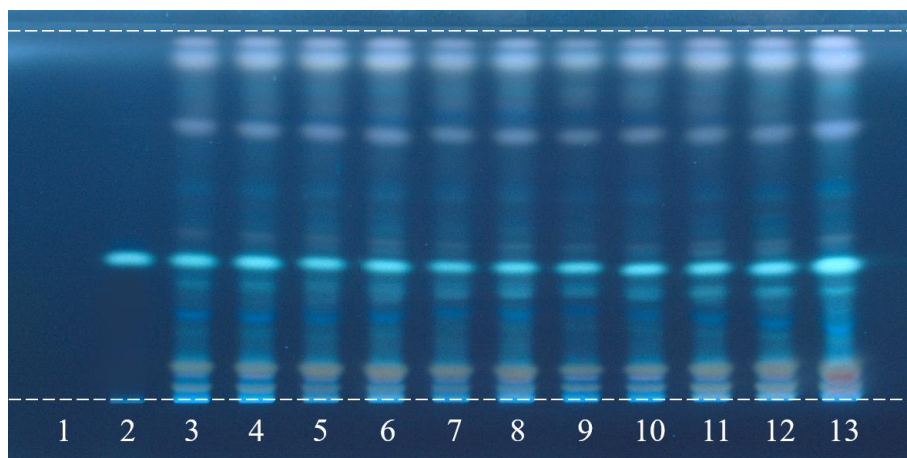
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 10%硫酸/乙醇試液顯色後紫外光(365 nm)檢出

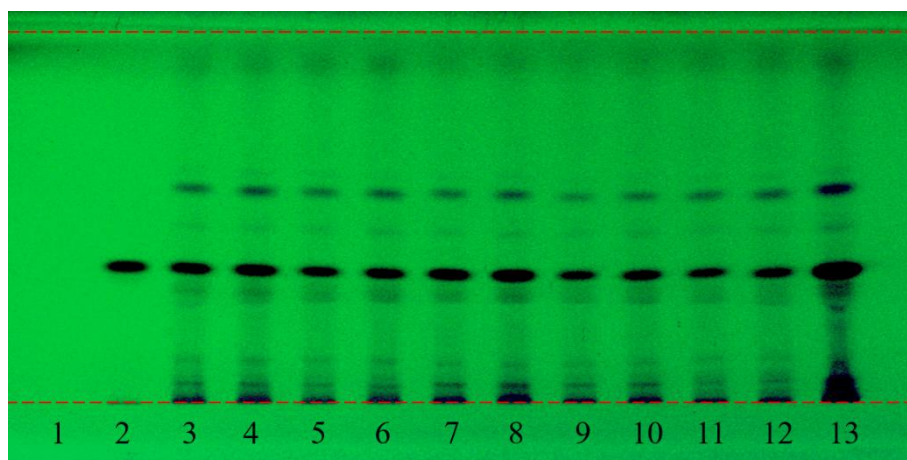


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (NRB)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CB)
3, 4	檢品溶液 1 (NF)	11, 12	檢品溶液 5 (CE)
5, 6	檢品溶液 2 (NJ)	13	Spike (檢品溶液 1)

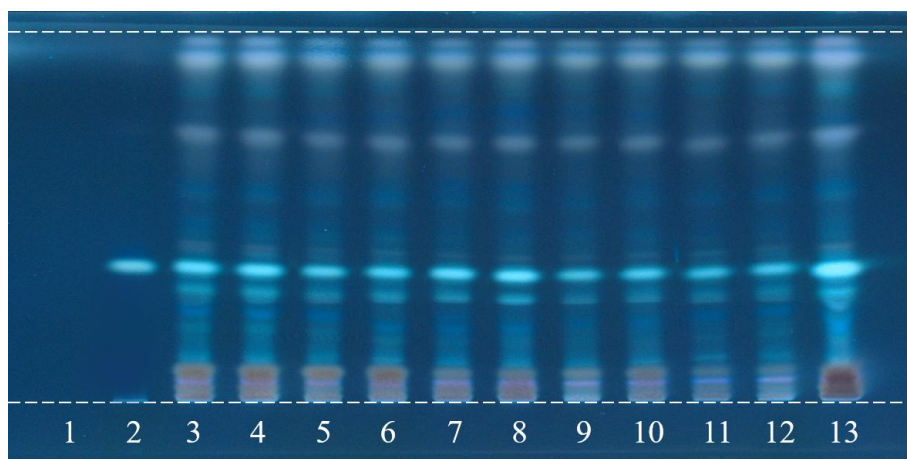
【展開劑 2】《中華人民共和國藥典 2020》——乙酸乙酯：甲醇：水 (10：2：1)

【萃取方法 1】《臺灣中藥典第四版》—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) HPTLC 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 (SUA)
2	龍膽苦苷(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SUB)
3, 4	檢品溶液 6 (SK2)	11, 12	檢品溶液 10 (SUC)
5, 6	檢品溶液 7 (SK5)	13	Spike (檢品溶液 1)

結論與建議：以《臺灣中藥典》之【萃取方法 1】方式及《中華人民共和國藥典》之【展開劑 2】分離與檢出龍膽苦苷較佳，以紫外光(254 nm)或以 10%硫酸/乙醇試液顯色後於紫外光(365 nm)下檢視較佳。