

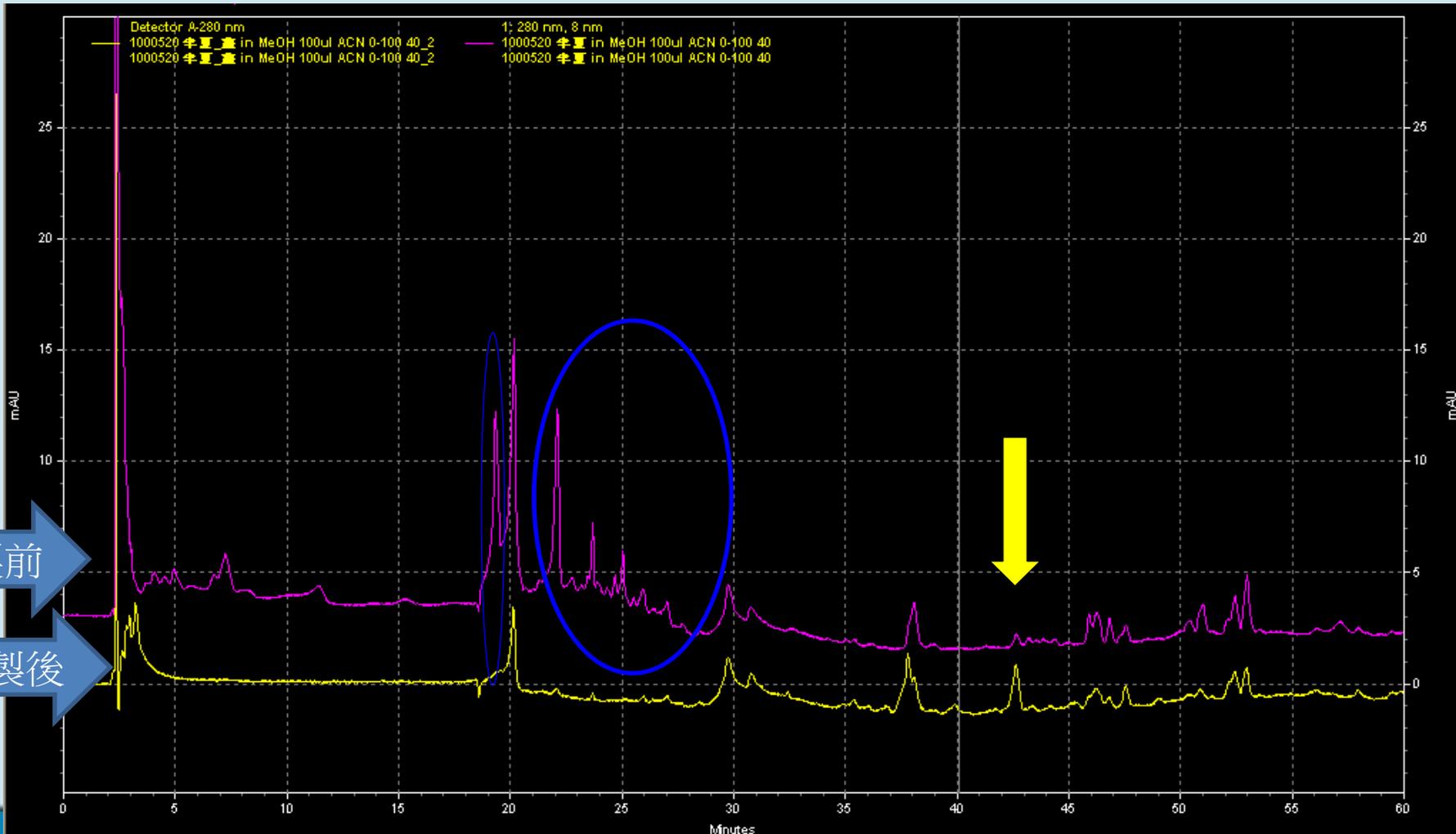


炮製前後成分&活性 變化實驗

王靜瓊 教授
臺北醫學大學 藥學系



半夏炮製前後之成分變化



實驗一、白朮炮製前後成分變化

- 將炮製後的藥材（白朮粉末(過20號篩)）秤取固定重量（**1g**）後，在試管內加入**10 mL**甲醇，利用超音波振盪器，振盪30分鐘，去上清液備用。



TLC之分析方法

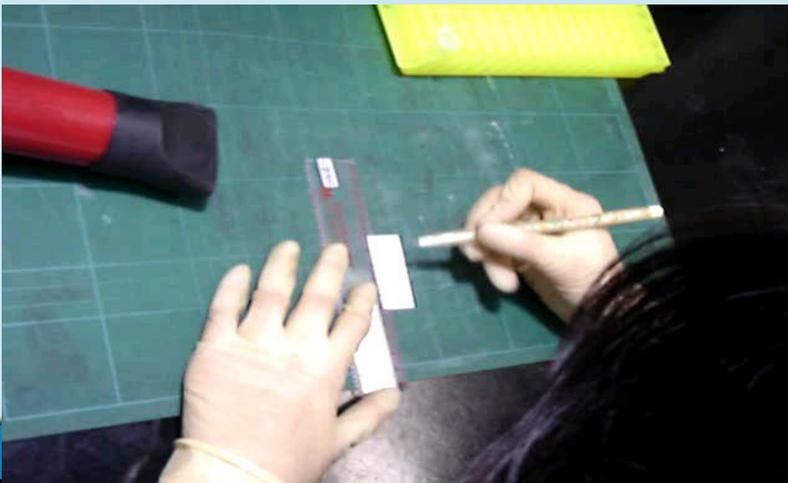
1. 薄層層析板之切割



2. 移動相配製



3. 薄層層析點樣



4. 移動相放入展開槽，並置入固定相。



TLC之結果判斷

1. 取出矽膠片，並標記移動相之位置。



2. 晾乾，以UV燈觀察



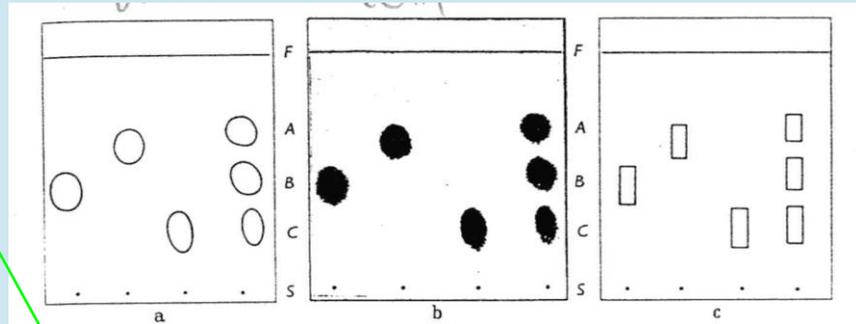
白朮之TLC分析條件

- 薄層層析條件
 - 層析板：Silica gel 60 F_{254}
 - 展開溶媒： n -hexane : EA = 3:1
 - 點注量：各5 μ l
 - 展開距離：5 cm
 - 檢出方法：U.V. 365nm
呈色劑10% H_2SO_4



TLC分析條件結果

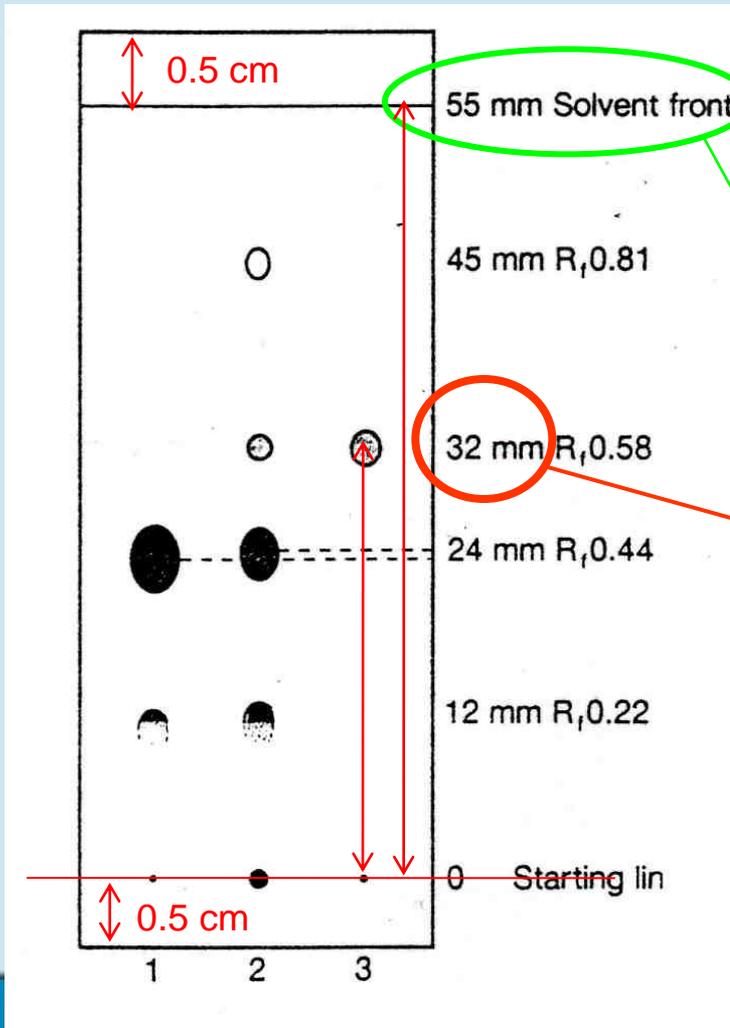
TLC層析結果之紀錄



計算薄層層析之 R_f 值的方法

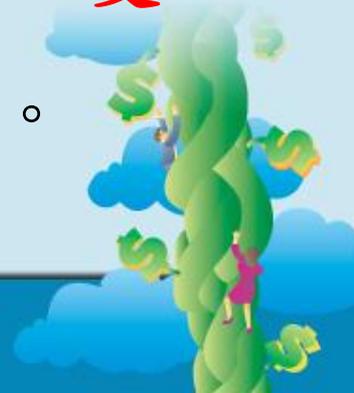
$$R_f = \frac{\text{某成分移動距離}}{\text{溶劑前端移動距離}}$$

對照標準品溶液與5種檢液於 R_f 值約0.69及0.54處有黃綠色螢光斑點。



實驗一、標準湯劑製備

- 將炮製後的藥材（決明子、澤瀉（5g-100mL）、地黃），剪碎後，秤取固定重量（10g）後，在燒杯中加入**20倍體積**之二次水（200 mL），以中火加熱至沸騰（不加蓋，**沸騰至少30分鐘**），當體積減少成原來一半時以**雙層紗布**過濾，濾液即為標準湯劑，備用。

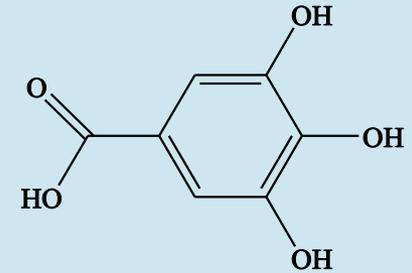


實驗二：

總多酚類 (Total polyphenol) 含量分析

• Folin-Ciocalteu 反應分析之原理

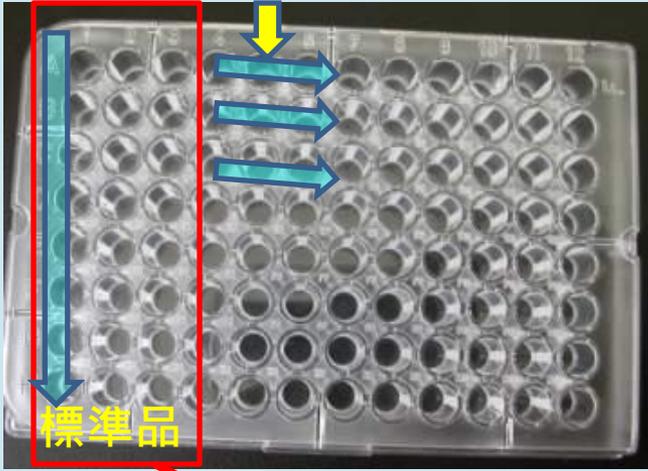
- Folin-Ciocalteu 試劑中 phosphotungstic acid 和 phosphomolybdic acid 被多酚類分子氧化呈色
- Gallic acid 作為標準品。



• 方法

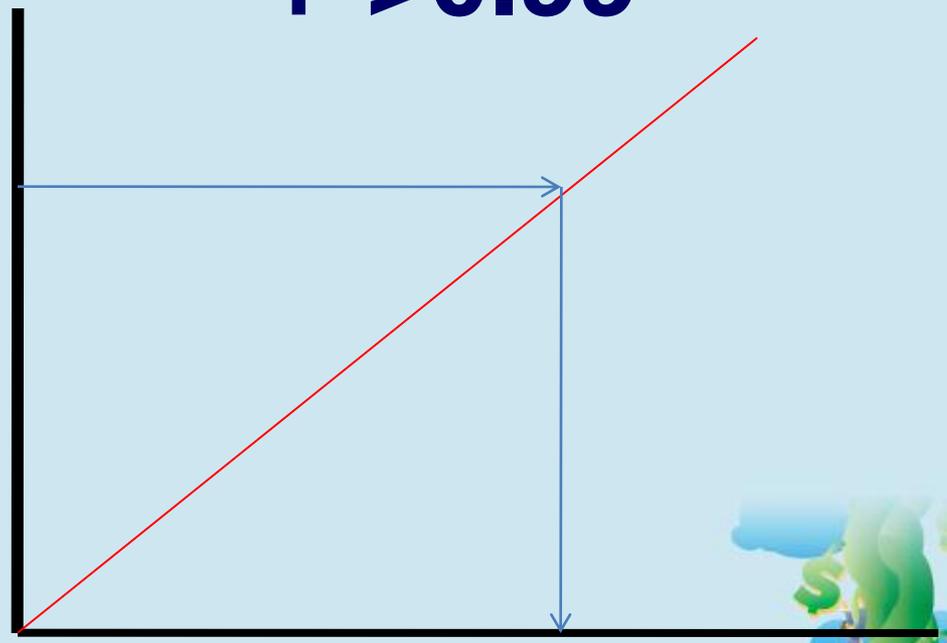
- 將 **100 μ L** 的樣品、**500 μ L** 的 Folin-Ciocalteu reagent (1X)、**400 μ L** 碳酸鈉 (7.5%) 混和均勻。將混合物放置於 50 $^{\circ}$ C 的水浴中反應 5 分鐘，取出冷卻至室溫。**取出 150 μ L 置入 96 孔盤，重複 3 次**，再以 ELISA Reader 波長 600 nm 測定。

各組決明子樣品

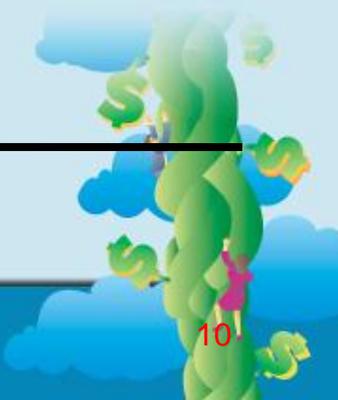


檢量線： $Y=aX+b$
 $r^2>0.99$

吸光值



濃度 (µg/mL)



微量吸管

- 種類：

- 2.5, 10, 20, 100, 1000, 5000, 10000 P

- P → μl

- 1 ml = 1000 μl

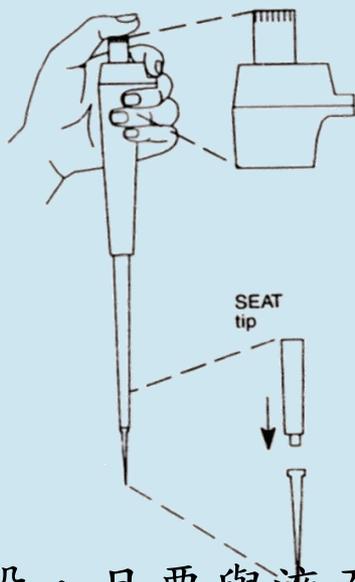
- P-20, P-100, P-200 → RC-20 Tip (黃色, 吸管尖)

- P-1000 → RC-200 Tip (藍色, 吸管尖)

- P-5000 → C-5000 Tip (白色, 吸管尖)



微量吸管之使用方法

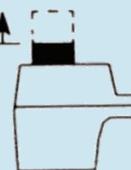


WITHDRAW SAMPLE

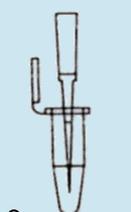
DEPRESS plunger to first stop



RELEASE plunger slowly

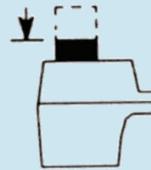


DRAW sample into tip

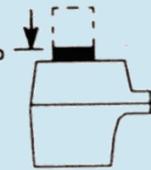


EXPEL SAMPLE

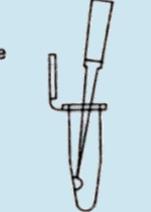
DEPRESS plunger to first stop



DEPRESS plunger to second stop

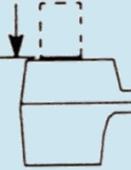


ADHERE droplet to side of tube



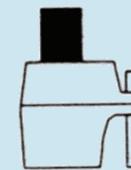
EJECT TIP

DEPRESS plunger to third stop



or

DEPRESS tip ejector



注意事項

- 吸時，壓至第一段，且要與液面垂直。
- 放時，壓至第二段，且要將尖端輕碰管壁。
- 用畢需將刻度轉回最大刻度，並將彈簧輕彈回復。



實驗三、四：鹽度、甜度檢測法

• 鹽度：澤瀉

- 將測試台表面擦拭乾淨
- 取0.3 ml蒸餾水滴中央
- 按下START鍵，歸零 (0.0 %)
- 再將菱鏡擦乾
- 滴入0.3 ml澤瀉標準湯劑於鏡台中央
- 按下START鍵，結果顯示樣品中鹽分之含量% (g/100g)。

• 甜度：地黃

- 將測試台表面擦拭乾淨
- 取0.3 ml蒸餾水滴中央
- 按下START鍵，歸零 (0.0 %)
- 再將菱鏡擦乾
- 滴入0.3 ml地黃標準湯劑於鏡台中央
- 按下START鍵，結果顯示樣品中甜度之含量%。

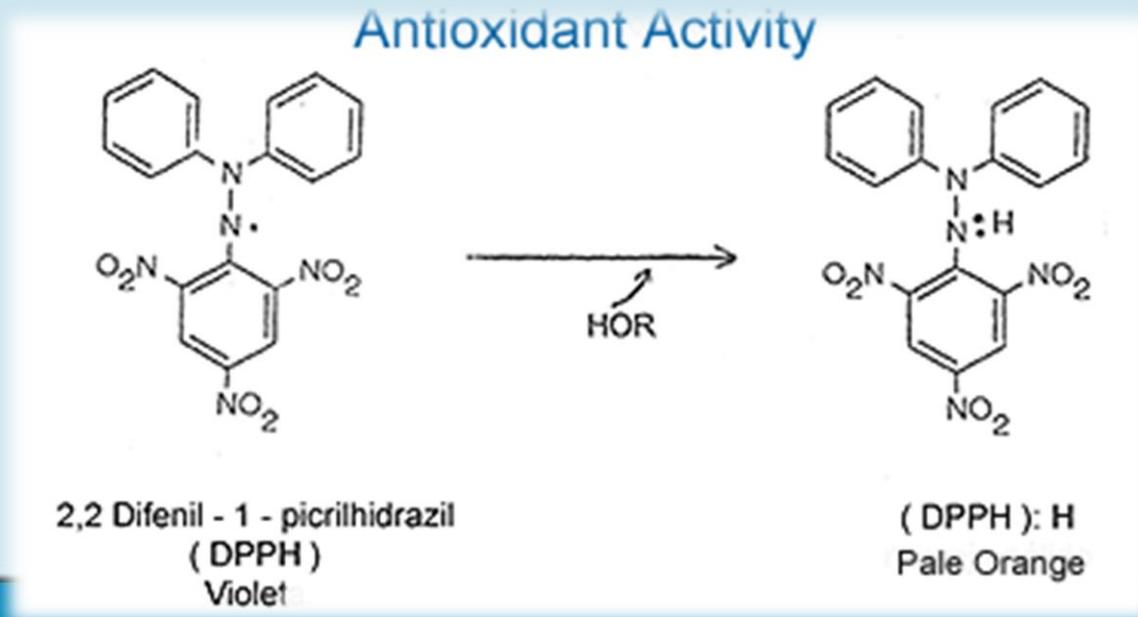
實驗五、決明子炮製前後清除自由基能力比較

- 將炮製後的藥材（決明子粉末(過20號篩)）秤取固定重量（1g）後，在試管內加入10 mL 甲醇，利用超音波振盪器，振盪30分鐘，去上清液備用。



清除DPPH自由基之實驗原理

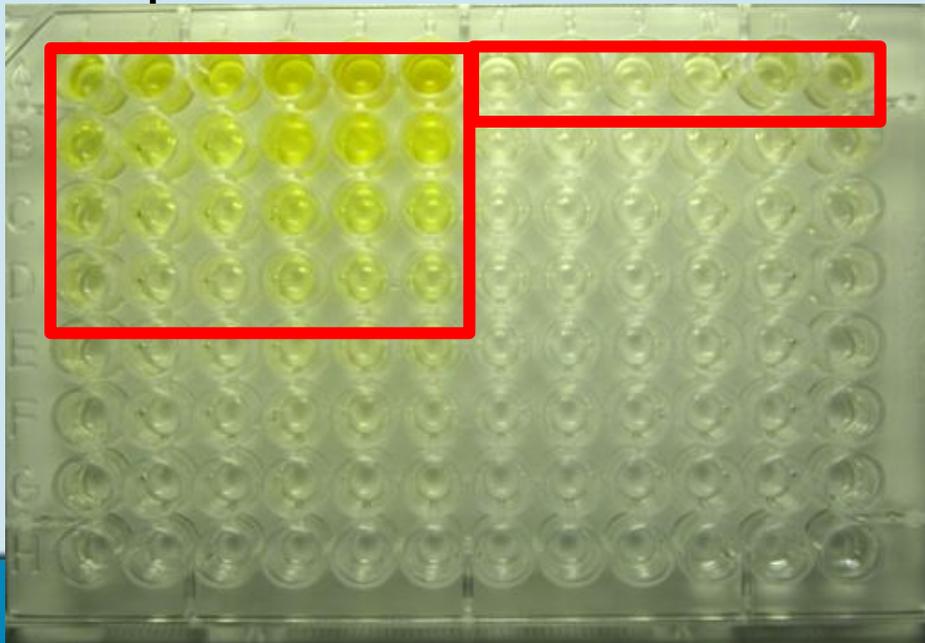
- DPPH為穩定之自由基，呈紫色，於515nm波段有吸收。當DPPH被還原時，會變為淡黃色，於515nm波段的吸收值將變小，可藉此進行具有清除自由基特性之原料篩選。



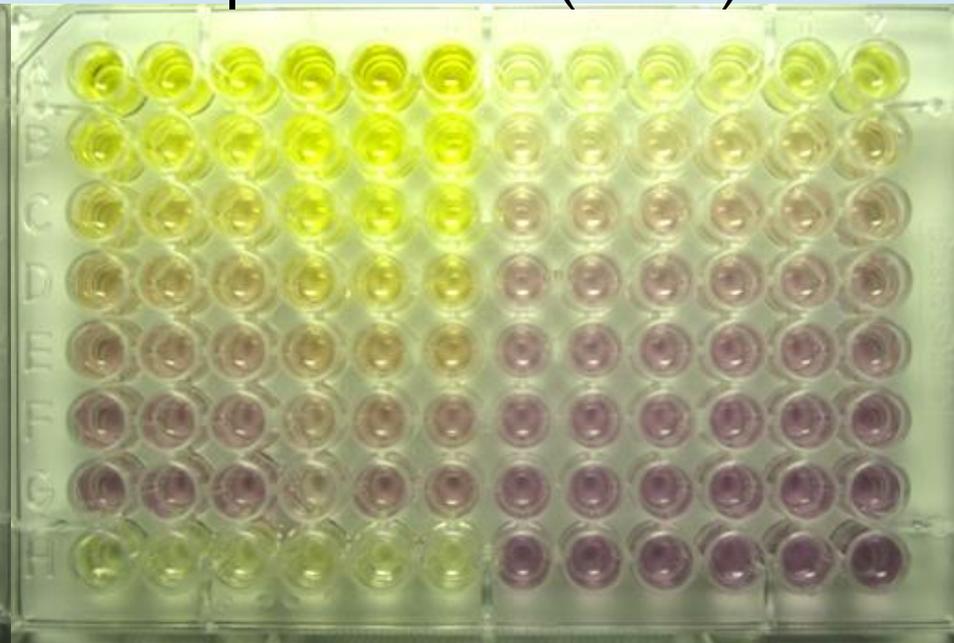
實驗方法

- 將100 μL 決明子溶液加入於96孔盤中(進行三重複)，隨後加入100 μL 濃度為200 μM 之DPPH試劑，置於室溫避光反應30分鐘，測量波長515 nm的吸光值。

Sample



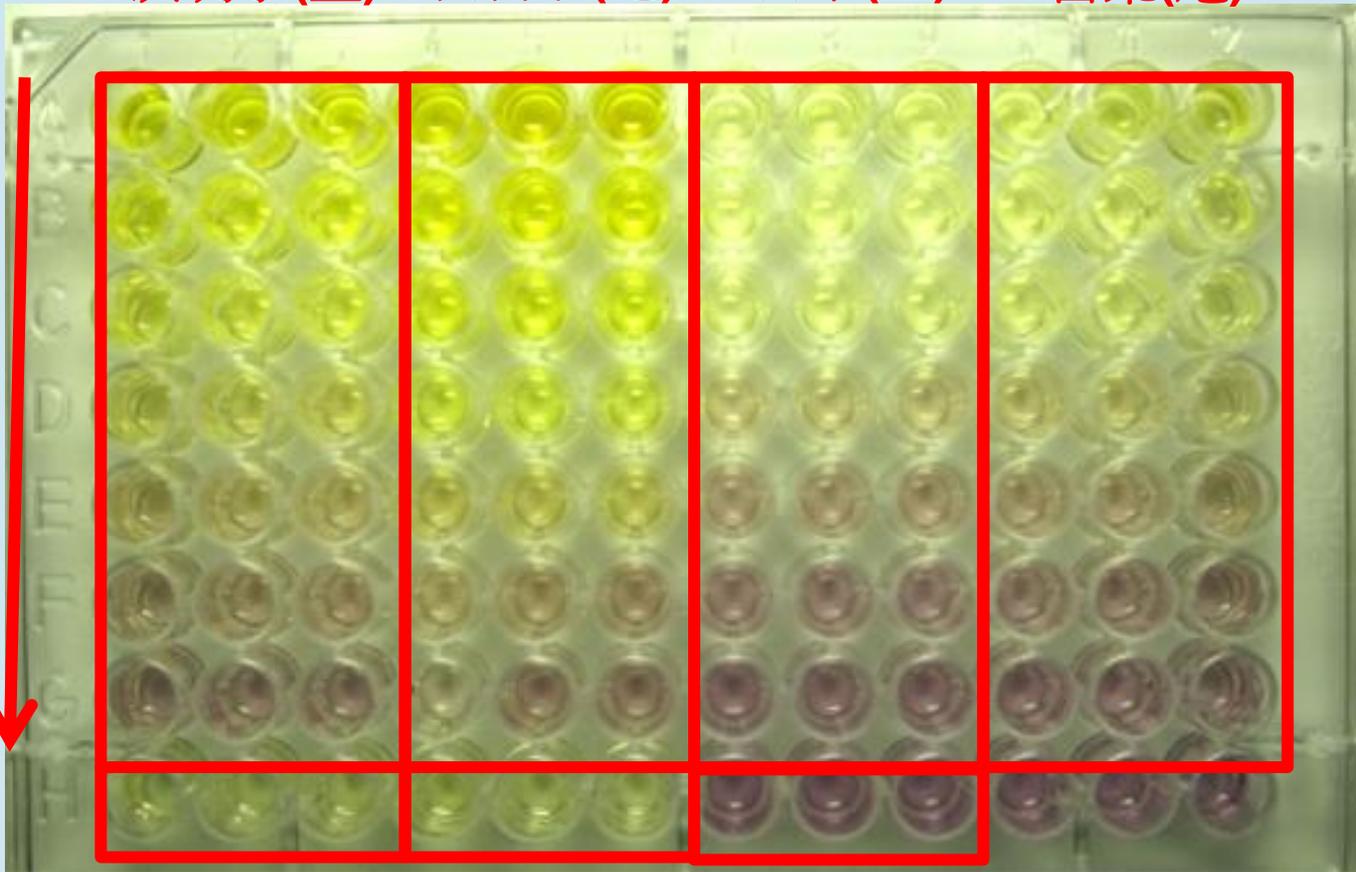
Sample + DPPH (0 min)



檢品稀釋方向

決明子(生) 決明子(炮) 白朮(生) 白朮(炮)

等
倍
稀
釋



Vit. E

Vit. E

Control

(100 μ L) (甲醇 100 μ L)



結果

