

枳實

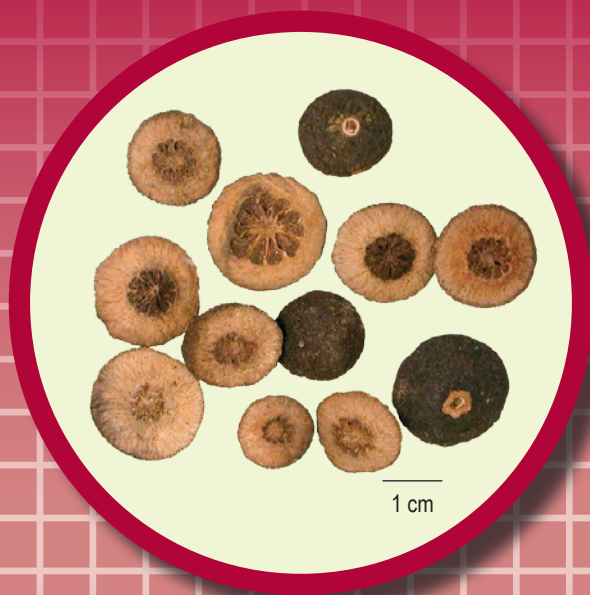


圖 1 (i) 枳實外觀圖 (酸橙 *Citrus aurantium* L.)



圖 1 (ii) 枳實外觀圖 (甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck)

1. 名稱

藥材正名：Aurantii Fructus Immaturus

中文名：枳實

漢語拼音名：Zhishi

2. 來源

本品為芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培變種或甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck 的乾燥幼果。5-6 月收集自落的果實，除去雜質，整個、切為兩半或切片，曬乾或常溫乾燥。

3. 性狀

酸橙：幼果呈半球形，直徑 8-35 mm。外果皮深綠色至深棕綠色，具顆粒狀突起和皺紋；可見明顯的花柱殘跡或果梗痕。橫切面中果皮稍隆起，厚 4-8 mm，在中果皮邊緣散有 1-2 列油室，瓢囊 7-13 瓣，汁囊乾縮呈棕色。中心柱直徑 2-5 mm。質堅硬。氣清香，味苦、微酸 [圖 1 (i)]。

甜橙：幼果多呈球形、半球形或圓片狀，直徑 5-25 mm。外果皮黃棕色至深棕綠色，花柱殘跡或果梗痕明顯。質堅硬。氣清香，微苦 [圖 1 (ii)]。

4. 鑒別

4.1 顯微鑒別 (附錄 III)

橫切面

酸橙：外果皮為 1 列細胞，外被厚角質層，有氣孔。油室 1-2 列，相對較大，類圓形至長橢圓形，不規則地排列在中果皮外側。中果皮薄壁細胞數列，壁不均勻增厚，散有草酸鈣方晶。維管束小，外韌型，散佈在中果皮。內果皮為 1 列薄壁細胞，成瓢囊瓣膜，內充滿汁囊，皺縮。汁囊由薄壁細胞組成 [圖 2 (i)]。

甜橙：中果皮在橫切面所佔的比例較酸橙小。果皮薄壁細胞中可見扇形樣結晶 [圖 2 (ii)]。

粉末

酸橙：黃白色。中果皮細胞類圓形或不規則形，細胞壁大多呈不均勻念珠狀增厚。外果皮表皮細胞表面觀多角形、類方形至長方形，氣孔環式，直徑 22-32 μm ，副衛細胞 5-9 個，側面觀可見厚角質層。油室碎片棕黃色，常破碎，有時可見油滴散在。主要為螺紋導管或網紋導管，直徑 4-24 μm ，草酸鈣方晶在果皮細胞或汁囊中，較多，呈棱形、雙錐形或多面體形，直徑 2-35 μm 。偏光顯微鏡下可見亮白光至多彩狀 [圖 3 (i)]。

甜橙：呈棕黃色。可見黃色扇形樣結晶，有時呈不規則形狀 [圖 3 (ii)]。

4.2 薄層色譜鑒別 [附錄 IV (A)]

對照品溶液

辛弗林對照品溶液

取辛弗林對照品(圖 4) 1.0 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

展開劑

製備水 - 正丁醇 - 乙酸(5:4:1, v/v)的混合溶液，置分液漏斗中，振搖，靜置 30 分鐘，取上層溶液備用。

顯色劑

取茛三酮 1 g，溶解於 100 mL 乙醇中。

供試品溶液

取本品粉末 0.5 g，置 50-mL 錐形瓶中，加甲醇 20 mL，超聲(240 W)處理 30 分鐘，濾過。取濾液轉移於 50-mL 圓底燒瓶中，用旋轉蒸發器減壓蒸乾，殘渣溶於 1 mL 甲醇，即得。

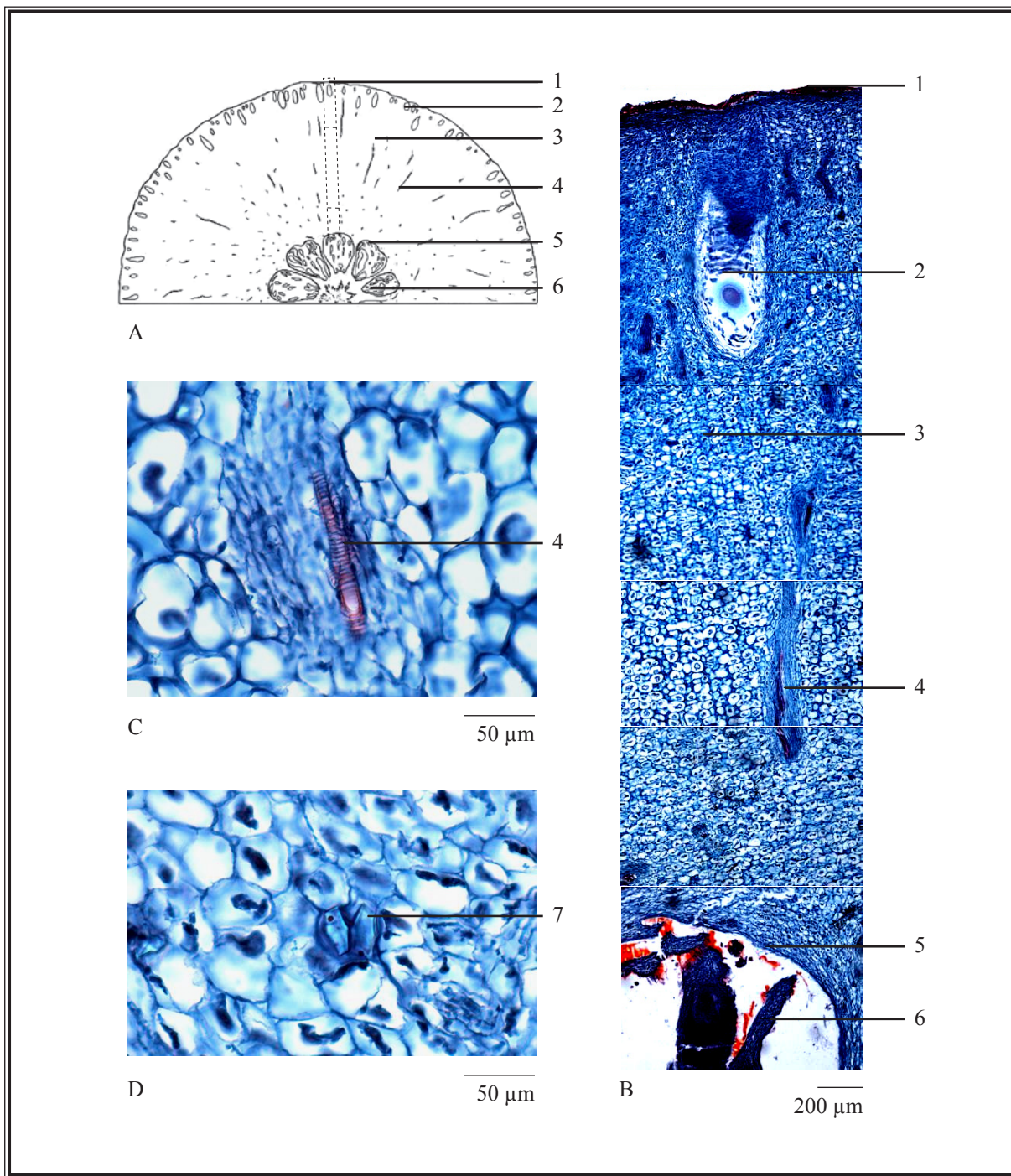


圖 2 (i) 酸橙橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 橫切面圖 C. 維管束 D. 草酸鈣方晶

- 1. 外果皮 2. 油室 3. 中果皮 4. 維管束 5. 內果皮 6. 汁囊
- 7. 草酸鈣方晶

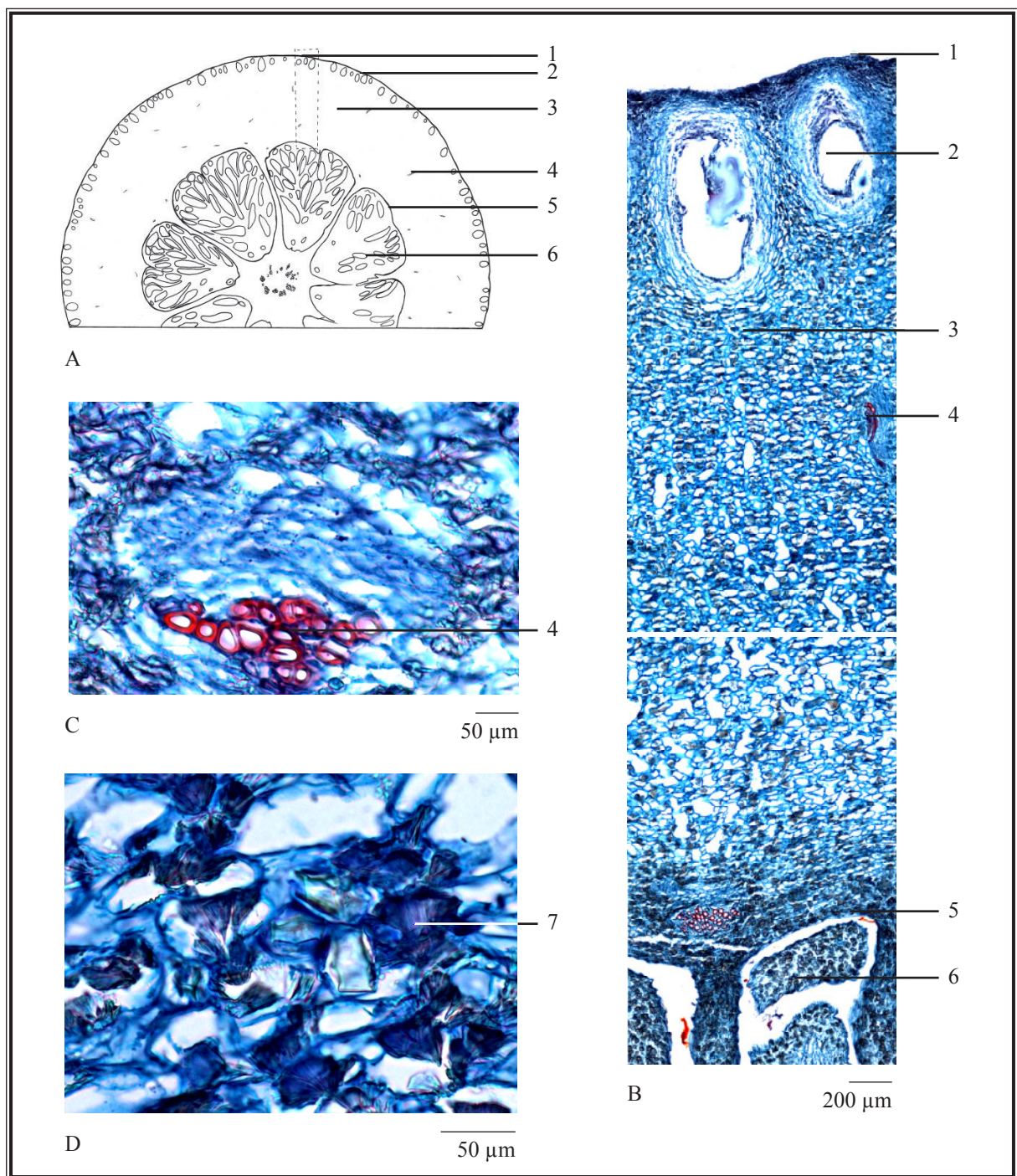


圖 2 (ii) 甜橙橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 橫切面圖 C. 維管束 D. 橙皮苷樣結晶

- 1. 外果皮 2. 油室 3. 中果皮 4. 維管束 5. 內果皮 6. 汁囊
- 7. 扇形樣結晶

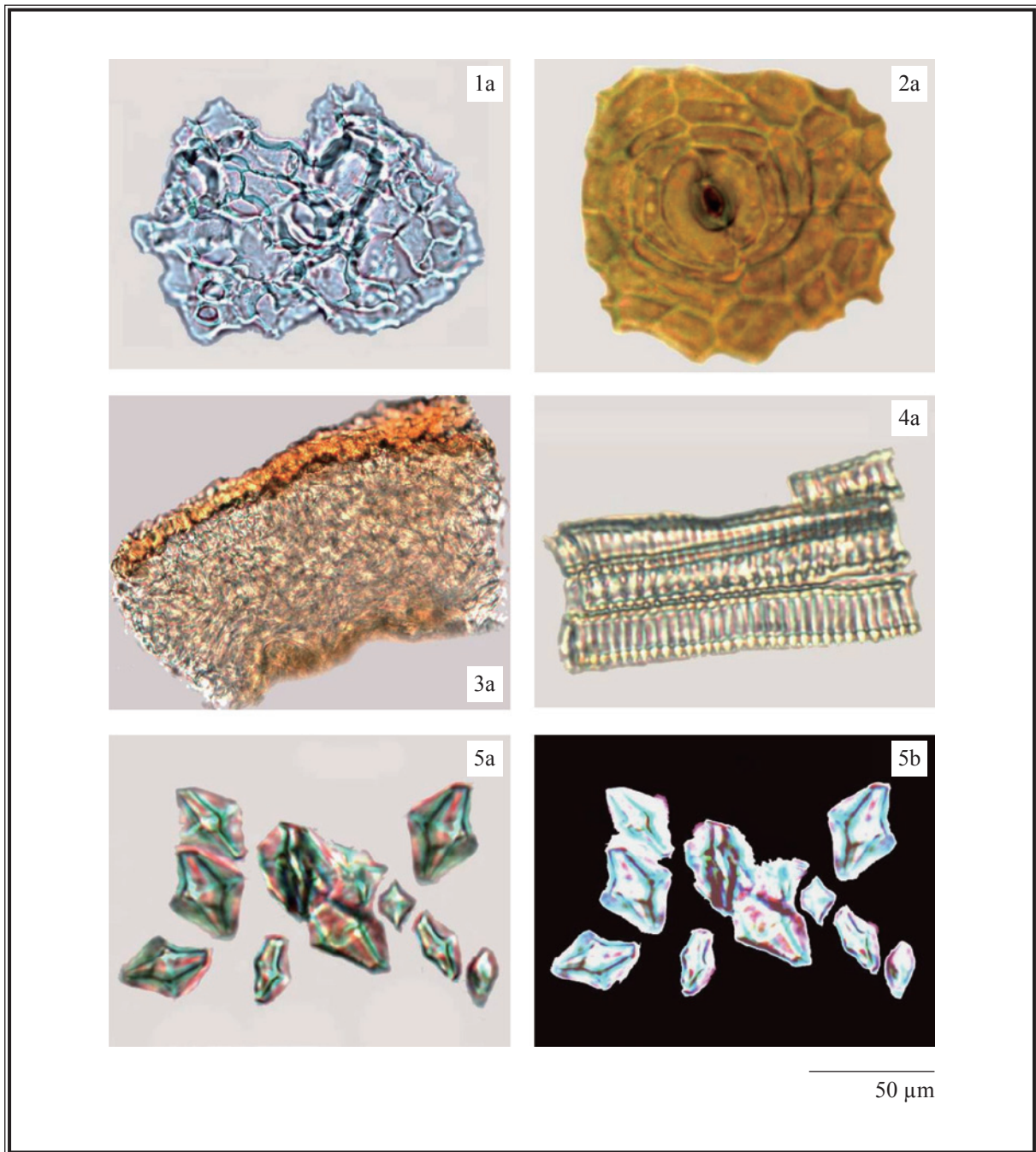


圖 3 (i) 酸橙粉末顯微特徵圖

1. 中果皮碎片 2. 果皮表皮細胞 3. 油室碎片 4. 螺紋導管 5. 草酸鈣方晶
 a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

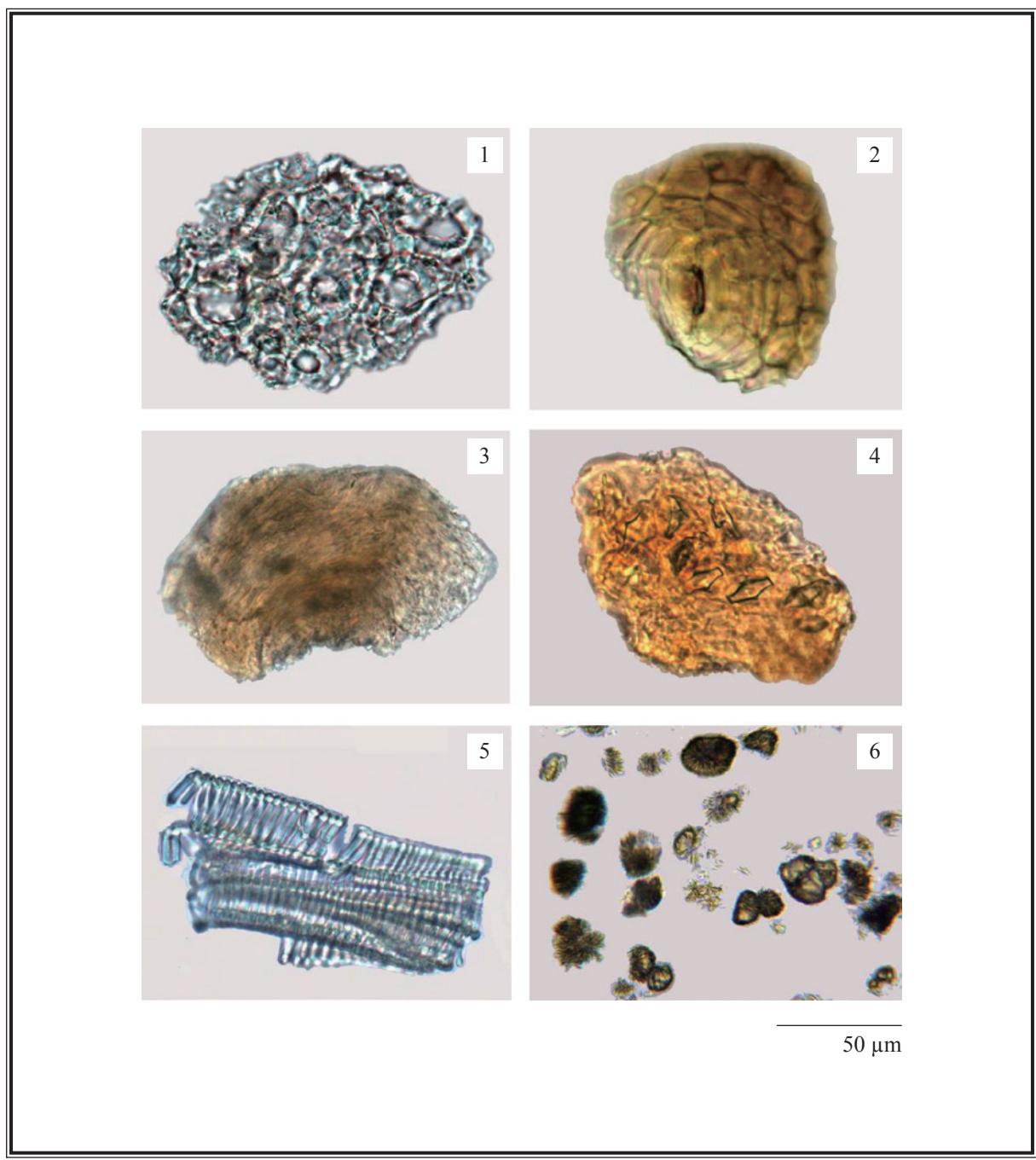


圖 3 (ii) 甜橙粉末顯微特徵圖(光學顯微鏡下)

1. 中果皮碎片
2. 果皮表皮細胞
3. 油室碎片
4. 草酸鈣方晶
5. 螺紋導管
6. 扇形樣結晶

操作程序

照薄層色譜法 [附錄 IV (A)] 進行。分別吸取辛弗林對照品溶液和供試品溶液各 3 μL ，點於同一高效硅膠 F_{254} 薄層板上 [預先浸入 1% (w/v) 氫氧化鈉溶液 20 秒，晾乾，在 105°C 加熱 1 小時，置乾燥器中放冷。]。將薄層板置雙槽層析缸一槽中，加上述新製備的展開劑於另一槽內，預先飽和 15 分鐘，再將展開劑小心傾入置薄層板的槽中，展開約 7 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。均勻噴上顯色劑，在約 105°C 加熱，直至斑點或條帶清晰可見 (約 5-10 分鐘)。置可見光下檢視，並計算 R_f 值。

供試品色譜應顯出與辛弗林色澤相同、 R_f 值相應的特徵斑點或條帶。

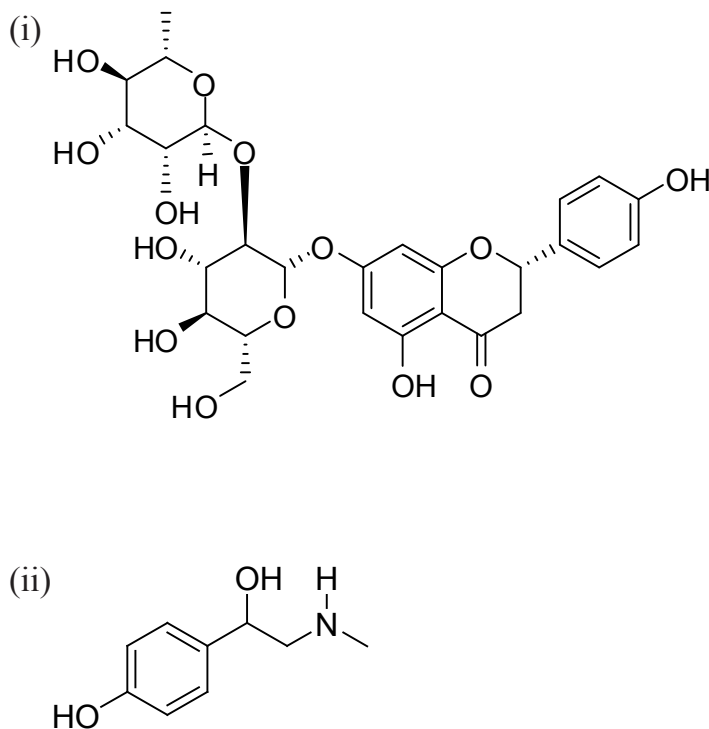


圖 4 化學結構式 (i) 柚皮苷 (ii) 辛弗林

4.3 高效液相色譜指紋圖譜法 (附錄 XII)

對照品溶液

柚皮苷對照品溶液 *Std-FP* (100 mg/L)

取柚皮苷對照品 (圖 4) 1.0 mg，溶解於 10 mL 甲醇中。

辛弗林對照品溶液 *Std-FP* (100 mg/L)

取辛弗林對照品 1.0 mg，溶解於 10 mL 甲醇中。

供試品溶液

取本品粉末 0.2 g，置 50-mL 離心管中，加 50% 乙醇 20 mL，超聲 (240 W) 處理 30 分鐘，離心 5 分鐘 (約 3000 × g)，用 0.45- μ m 微孔濾膜 (PTFE) 濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 224 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5 μ m) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下 (表 1)：

表 1 色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	0.1% 磷酸和 0.1% 十二烷基硫酸鈉 (% , v/v)	乙腈 (% , v/v)	洗脫
0 – 15	80	20	等度
15 – 25	80 → 75	20 → 25	綫性梯度
25 – 30	75 → 67	25 → 33	綫性梯度
30 – 60	67 → 65	33 → 35	綫性梯度

系統適用性要求

吸取柚皮苷對照品溶液 *Std-FP* 和辛弗林對照品溶液 *Std-FP* 各 10 μ L，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：柚皮苷和辛弗林的峰面積相對標準偏差均應不大於 5.0%；柚皮苷峰和辛弗林峰的保留時間相對標準偏差均應不大於 2.0%；理論塔板數按柚皮苷峰和辛弗林峰計算分別應不低於 8000 和 150000。

供試品測試中 2 號峰和 4 號峰分別與其鄰近峰之間的分離度均應不低於 1.0 [圖 5 (i) 或 (ii)]。

操作程序

分別吸取柚皮苷、辛弗林對照品溶液 Std-FP 和供試品溶液各 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。測定對照品溶液 Std-FP 色譜圖中柚皮苷峰和辛弗林峰的保留時間，及供試品溶液色譜圖中 4 個特徵峰 [圖 5 (i) 或 (ii)] 的保留時間。在相同液相色譜條件下，與相應對照品溶液 Std-FP 色譜圖中二成份峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中柚皮苷峰和辛弗林峰。二色譜圖中柚皮苷峰和辛弗林峰的保留時間相差均應不大於 2.0%。按附錄 XII 公式計算特徵峰的相對保留時間。

枳實提取液 4 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍見表 2。

表 2 枳實提取液 4 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍

峰號	相對保留時間	可變範圍
1	0.34	± 0.03
2 (柚皮苷)	0.40	± 0.03
3 (橙皮苷)	0.44	± 0.03
4 (指標成份峰，辛弗林)	1.00	-

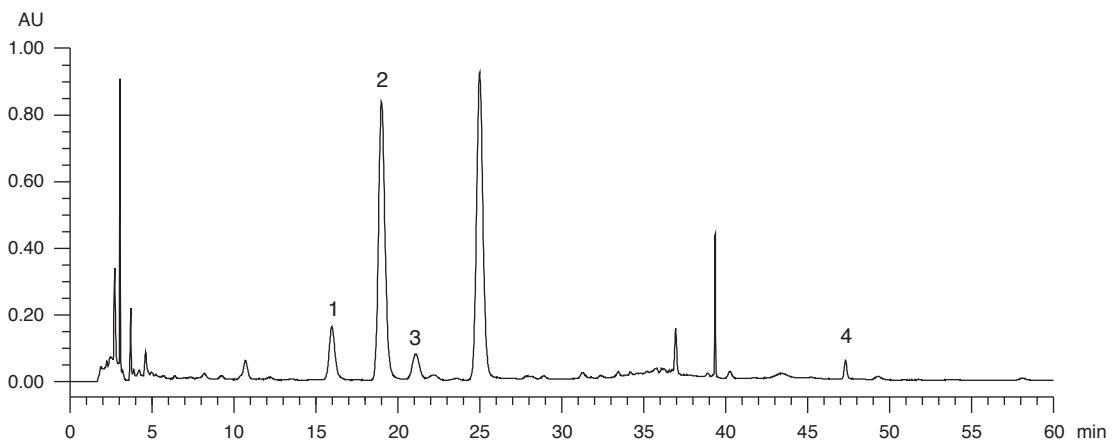


圖 5 (i) 酸橙提取液對照指紋圖譜

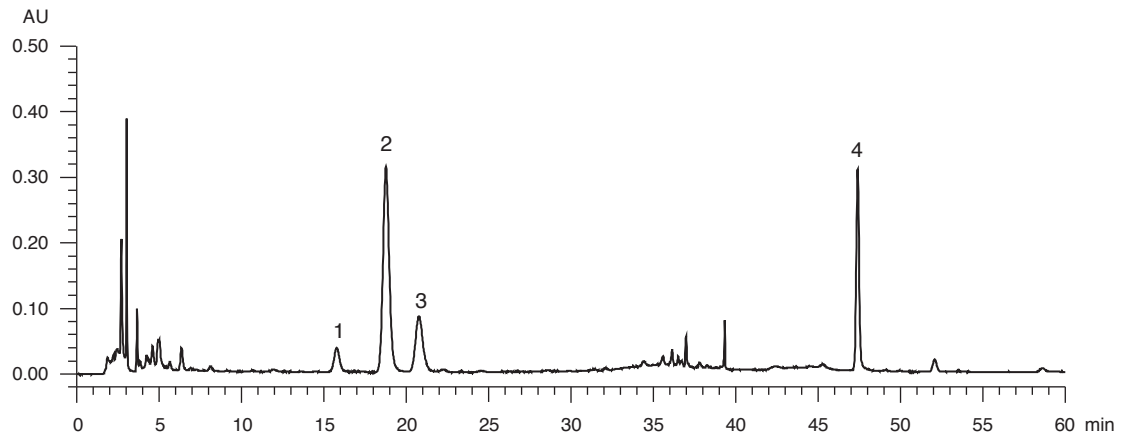


圖 5 (ii) 甜橙提取液對照指紋圖譜

供試品色譜圖中應有與對照指紋圖譜相對保留時間範圍內一致的 4 個特徵峰 [圖 5 (i) 或 (ii)]。

5. 檢查

5.1 重金屬 (附錄 V) : 應符合有關規定。

5.2 農藥殘留 (附錄 VI) : 應符合有關規定。

5.3 霉菌毒素 (附錄 VII) : 應符合有關規定。

5.4 二氧化硫殘留 (附錄 XVIII) : 應符合有關規定。

5.5 雜質 (附錄 VIII) : 不多於 1.0%。

5.6 灰分 (附錄 IX)

總灰分 : 不多於 6.0%。

酸不溶性灰分 : 不多於 1.0%。

5.7 水分 (附錄 X)

甲苯法 : 不多於 13.0%。

6. 浸出物 (附錄 XI)

水溶性浸出物(熱浸法)：不少於 22.0%。

醇溶性浸出物(熱浸法)：不少於 23.0%。

7. 含量測定

照附錄 IV (B) 進行。

7.1 辛弗林含量測定

對照品溶液

辛弗林對照品儲備液 *Std-Stock* (500 mg/L)

精密稱取辛弗林對照品 2.5 mg，溶解於 5 mL 甲醇中。

辛弗林對照品溶液 *Std-AS*

精密吸取辛弗林對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含辛弗林分別為 25、50、75、100、150 mg/L 系列的對照品溶液。

供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.5 g，置 50-mL 離心管中，加 50% 甲醇 25 mL，超聲(240 W)處理 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 2000×g)。取上清液轉移於 250-mL 圓底燒瓶中，重複提取 1 次，合併上清液，用旋轉蒸發器減壓蒸乾。殘渣溶於 50% 甲醇，轉移於 25-mL 量瓶中，加 50% 甲醇至刻度，用 0.45- μ m 微孔濾膜(PTFE)濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 224 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠(5 μ m)填充柱；流速約 1.0 mL/min。流動相為 0.075% 磷酸和 0.1% 十二烷基硫酸鈉 - 乙腈(68:32, v/v)的混合溶液；流程約 30 分鐘。

系統適用性要求

將辛弗林對照品溶液 *Std-AS* (50 mg/L) 10 μ L，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：辛弗林的峰面積相對標準偏差應不大於 5.0%；辛弗林峰的保留時間相對標準偏差應不大於 2.0%；理論塔板數按辛弗林峰計算應不低於 8000。

供試品測試中辛弗林峰與鄰近峰之間的分離度應不低於 1.5。

標準曲綫

將辛弗林系列對照品溶液 Std-AS 各 10 μL ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以辛弗林的峰面積與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

操作程序

將供試品溶液 10 μL ，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與辛弗林對照品溶液 Std-AS 色譜圖中辛弗林峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中辛弗林峰。二色譜圖中辛弗林相應峰的保留時間相差應不大於 2.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式計算供試品溶液中辛弗林的濃度 (mg/L)，並計算樣品中辛弗林的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含辛弗林 ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_2$) 不少於 0.30%。

7.2 柚皮苷含量測定

對照品溶液

柚皮苷對照品儲備液 Std-Stock (500 mg/L)

精密稱取柚皮苷對照品 2.5 mg，溶解於 5 mL 甲醇中。

柚皮苷對照品溶液 Std-AS

精密吸取柚皮苷對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含柚皮苷分別為 0.2、6.25、12.5、50、100 mg/L 系列的對照品溶液。

供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.1 g，置 50-mL 離心管中，加 50% 乙醇 15 mL，超聲 (240 W) 處理 30 分鐘，離心 5 分鐘 (約 $3000 \times g$)。取上清液轉移於 100-mL 量瓶中，重複提取 2 次，合併上清液，加 50% 乙醇至刻度，用 0.45- μm 微孔濾膜 (PTFE) 濾過，即得。

色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 283 nm； 4.6×250 mm 十八烷基鍵合硅膠 (5 μm) 填充柱；流速約 1.0 mL/min。流動相為 0.2% 磷酸 - 乙腈 (79:21, v/v) 的混合溶液；流程約 30 分鐘。

系統適用性要求

將柚皮苷對照品溶液 Std-AS (12.5 mg/L) 10 μL，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：柚皮苷的峰面積相對標準偏差應不大於 5.0%；柚皮苷峰的保留時間相對標準偏差應不大於 2.0%；理論塔板數按柚皮苷峰計算應不低於 8000。

供試品測試中柚皮苷峰與鄰近峰之間的分離度應不低於 1.5。

標準曲線

將柚皮苷系列對照品溶液 Std-AS 各 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。以柚皮苷的峰面積與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲線得斜率、截距與相關系數。

操作程序

將供試品溶液 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與柚皮苷對照品溶液 Std-AS 色譜圖中柚皮苷峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中柚皮苷峰。二色譜圖中柚皮苷相應峰的保留時間相差應不大於 2.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式計算供試品溶液中柚皮苷的濃度 (mg/L)，並計算樣品中柚皮苷的百分含量。

限度

按乾燥品計算，本品含柚皮苷 (C₂₇H₃₂O₁₄) 不少於 0.66%。