



縮送

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告小

市售減肥緊膚霜中黃嘌呤類的定量分析

組

Quantitative Analysis of Xanthines in Commercial Body Slimming and Firming Products

計畫編號：NSC 86-2314-B-041-004

執行期限：85年8月1日至86年7月31日

主持人：鄭淑華 嘉南藥理學院化妝品應用及管理科

E-mail: nxcheng@chna.chna.edu.tw

一、中文摘要

本研究發展一簡單、精確又快速的高效能逆相層析法，對市售減肥緊膚霜中，所含黃嘌呤成分進行分析。使用層析管柱為 Nava-Pak C₁₈ (3.9*150mm)，移動相為 CH₃CN:H₂O:H₃PO₄ (150:850:0.85)，測定波長為 UV273 nm。可可鹼、茶鹼及咖啡鹼的標準溶液可以完全分離，滯留時間分別為 1.60、1.92 及 2.82 min。系統的再現性良好，重覆注射的結果誤差均在 0.7% 以內。在 1-10 及 10-100ppm 的標準曲線的線性關係良好，r 值在 0.995 以上。回收率在 96-105% 之間，顯示實驗結果有很好再現性及準確性。就市售產品 5 件的檢查顯示，含有 0.05-3.76% 的咖啡鹼，沒有檢查到可可鹼及茶鹼的存在。

關鍵詞：減肥霜、高效能逆相層析、咖啡鹼

Abstract

A method for the determination of xanthines in over-the-counter topical body slimming and firming products (cellulite products) is described. The method uses reversed-phase liquid chromatography with a mixed eluent of acetonitrile, water and a small amount of phosphoric acid. The analytes are detected using ultraviolet detector at 273 nm. The well separation of three kinds standards - theobromine,

theophylline and caffeine are obtained. The retention time are 1.60, 1.92 and 2.82 min, respectively. Five commercial products are detected and found 0.05-3.86% (w/w) caffeine contained. Theobromine and theophylline are not found. The proposed method shows excellent recoveries and precision, and can be applied to the determination of xanthines in some cosmetic products.

Keywords: cellulite products, caffeine, reversed-phase liquid chromatography

二、緣由與目的

由於市面上瘦身產品充斥，【1、2】美容業均宣稱對於消除脂肪有神奇效果，尤其對大腿皮膚表面如橘子般的腫塊有撫平作用，也有減少腿圍尺寸的效果。這一類的減肥霜大都含有生物鹼，如乙二胺茶鹼 (aminophyllines)，事實上這種治療氣喘的藥在治療大腿浮肉的功能性，仍缺乏安全性及有效性的臨床驗證【3】。黃嘌呤的衍生物如咖啡鹼 (caffeine)、可可鹼 (theobromine) 及茶鹼 (theophylline) 等【圖 1】和乙二胺茶鹼的作用相似，包括心肌刺激作用、輕度的利尿作用、中樞神經系統的興奮作用、增加呼吸作用、肝醣分解作用及脂解作用等【4】，因此對於這類生物鹼添加在化妝品的情形，是值得注意及關切的。本計畫的目的在尋求一個快速而準確的方法來分析減肥霜中這類生物

鹼的含量，以提供生產例行抽樣檢查，對使用產品的消費者有多一層保障。

目前國內有關減肥產品仍是在配方階段，至於成分分析報告則未有所見，產品就算註明所含成分的比例，由於成分原料的純度問題，在製造過程中的變化，都會影響成分的物質的真實比例，這使得分析的工作顯得更為重要。雖然化妝品方面的分析資料較為缺乏，在咖啡豆(5g)、茶葉(5b)和馬尿液(5c)中含咖啡鹼的分析方法已經建立，利用高效能液相層析(6)及呈色分析(7)對茶鹼的分析也已經建立，這些都可以作為研究時的參考。

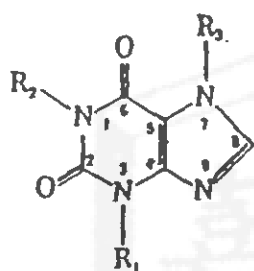
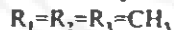


圖 1：三種生物鹼的化學結構

caffeine (1,3,7-trimethylxanthine):



theobromine (3,7-dimethylxanthine):



Theophylline (1,7-dimethylxanthine):



三、研究步驟

1. 儀器及裝置

(A) 高效能液相層析儀：SHIMADZU

pump：model LC-10AD

detector：model SPD-10A

(B) 樣品注入系統：RHEODYNE, 20 μ l,

model 7125

(C) 層析管柱：Nava-Pak, C18, 3.9*150 mm, Waters

(D) 移動相：CH₃CN:H₂O:H₃PO₄ = 150 : 850 : 0.85

(E) 流速：1.0 ml/min

(F) 偵測波長：273 nm

(G) 積分器：SHIMADZU, C-R6A

2. 試藥：

咖啡因(SIGMA)，茶鹼(SIGMA)，可可鹼(SIGMA)，氬甲烷(HPLC級)，磷酸

3. 製備標準溶液：

將咖啡鹼固體置於 110 °C 烘箱中，加熱 6 小時，待冷至室溫後精秤 0.0100 g，加入二次水溶解，配成 100 ppm，100 ml 的咖啡鹼標準溶液。茶鹼和可可鹼的標準溶液配製同上。

4. 校正曲線的製作

取咖啡鹼標準溶液加入二次水稀釋，分別配製成 1-10 及 10-100 ppm 的水溶液。分別取 5 μ l 注入 HPLC 系統，重覆操作三次，將所得波峰面積取平均值。取溶液濃度為橫座標，波峰面積為縱座標，利用線性迴歸方法製作標準曲線。

5. 樣品

本研究分析的減肥霜，購自化妝品專櫃或化妝品專賣店。

6. 樣品處理

精秤各樣品 10.0000 g，加入 200 ml 二次水溶解，加熱迴流 3 小時。溶液趁熱過濾，靜置至室溫。

7. 鑑別試驗及含量測定

分別取 5 μ l 各檢液注入 HPLC 系統，就檢液所得波峰的滯留時間與標準溶液的滯留時間比較，以鑑別溶液中是否有咖啡鹼、茶鹼或可可鹼存在。若檢液濃度超過校正曲範圍，則適當稀釋後再注入 HPLC 系統。重覆操作三次，以所得平均波峰面積與校正曲線對照，求出檢液中各生物鹼的含量。

8. 回收率實驗

精秤各樣品 10.0000 g，分別加入 1-2% 的生物鹼，依前述方法製成檢液後，以 HPLC 分析。所得含量除以估計之總含量，求出回收率。

四、結果與討論

【圖 2】是咖啡鹼和茶鹼溶於水中的 UV 光譜。咖啡鹼的最大吸收在 212 及 273.5 nm，茶鹼的最大吸收在 265.5 nm，可可鹼在水中溶解度很小。為了可以同時偵測三種生物鹼，因此選擇 273 nm 為偵測波長。

【圖 3】是咖啡鹼、茶鹼和可可鹼標準溶液混合後的 HPLC 圖譜。三種生物鹼都可以被沖提，波形相當對稱，且彼此間互相分離。

【圖 4】的校正曲線是以波峰面積比對注入標準溶液的濃度作圖，在 1-10 及 10-100 ppm 的直線關係良好。

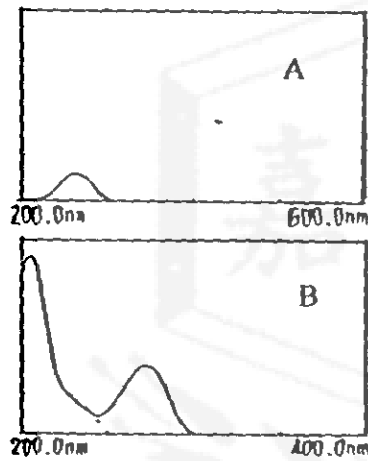


圖 2：咖啡鹼 (A) 和茶鹼 (B) 的吸收光譜

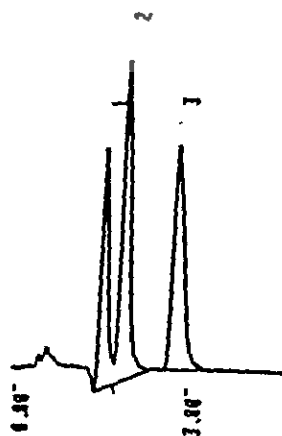


圖 3：HPLC 圖譜
1=可可鹼，2=茶鹼，3=咖啡鹼

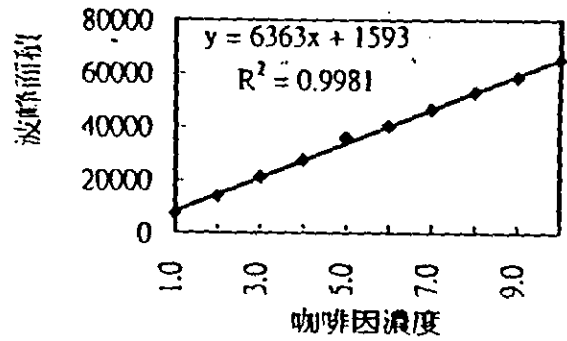


圖 4：咖啡鹼的校正曲線

【表 1】是五件市售減肥霜經過分析的結果。其中樣品 A 及 B 的標示中註明含有咖啡鹼成分，樣品 C 的標示為含有 30% 瓜拉那萃取 (guarana extract)，檢測結果咖啡鹼的含量均較高。樣品 D 及 E 則含有植物性萃取，如海帶、常春藤及海藻等，檢測結果咖啡鹼含量較低。這五件樣品均未檢出茶鹼及可可鹼成分。

表 1：減肥霜中咖啡鹼的含量

樣品	咖啡鹼 (% w/w)	C.V. ^b (%)
A	2.42	2.0
B	3.76	3.6
C	1.12	1.8
D	0.33 ^a	2.0
E	0.05 ^a	2.3

a. 使用 1-10 ppm 的標準曲線換算所得

b. C.V. = coefficient of variation (n=3)

對減肥霜的回收率實驗則可以評估上述方法的再現性及準確性。由於樣品 A、B 及 C 的咖啡鹼含量較高，因此加入 1-2% 的咖啡鹼，而樣品 D 及 E 的咖啡鹼較低，因此加入 0.1-0.2% 咖啡鹼。【表 2】顯示實驗的回收率良好，在 96-105% 之間。

表 2：減肥霜的回收率實驗

樣品	重量 (g)	添加咖啡鹼 (g)	回收率 (%)
A	10.0000	0.0100	98.5
	10.0000	0.0200	99.4
B	10.0000	0.0100	102.5
	10.0000	0.0200	104.2

C	10.0000	0.0100	99.5
	10.0000	0.0200	100.8
D	10.0000	0.0010	97.1
	10.0000	0.0020	97.8
E	10.0000	0.0010	96.5
	10.0000	0.0020	97.5

五、計畫成果自評

在研究成果方面，已發展出一套簡易的方法，可以針對減肥霜中的咖啡鹼、茶鹼及可可鹼的成分進行分析，樣品的處理非常簡單，分析的時間也很短，可適合經常性的分析作業。研究內容與原計畫相符程度，適合在學術期刊發表。

六、參考文獻：

1. 八卷英彥，Frangrance Journal，8，1995，A，。
2. Johanna Omelia，Drug & Cosmetic Industry，9，1994，53。
3. 現代美容，第76期，73頁
4. 陳長安編譯，臨床藥物治療手冊，合記圖書出版社，二版，民78四月。
5. (a)Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis，Literature House, LTD. Taipei, Taiwan, vol. 10, 1974, 404.
(b)Ibid, vol. 18, 1974, 488.
(c)M. C. Salvadori, E. M. Reiser, L. R. Neto, and E. S. Nascimento, Analyst 119, 1994, 2701.
6. C. A. Lau-Cam, R. W. Roos, J. Liquid Chromatogr. 14(10), 1991, 1939.
7. (a)S. R. El-Shabourie, S. A. Hussein, S. E. Emara, Talanta 36(12), 1989, 1288.
(b)L. M. Perry, J. D. Winefordner, Talanta 37(10), 1990, 965