

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

毛細管電泳應用於化妝品中有效成分之分離與定量

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2113-M-041-003-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

計畫主持人：林維炤

共同主持人：王翠霜

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 92 年 10 月 31 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

毛細管電泳應用於化妝品中有效成分之分離與定量

Separation and Quantification of effective components in Cosmetic Products by capillary Electrophoresis

計畫編號：NSC 91-2113-M-041-003

執行期限：91 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

主持人：林維炤 嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

共同主持人：王翠霜 嘉南藥理科技大學醫藥化學系

一、中文摘要

本次研究是利用毛細管電泳在室溫下，以微胞電動力毛細管層析法 (MECC) 來分離六種維生素 C 的衍生物，包含 Vitamin C、Vitamin C 6-Palmitate、Vitamin C 2, 6Dipalmitate、Vitamin C 6-Stearate、Vitamin C-2-phosphate 與 Vitamin C 2-sulfate。因為 Vitamin C 極不穩定，很容易被氧化，所以必須先考慮如何延長 Vitamin C 的穩定度，故添加入硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 來延長的 Vitamin C 穩定度。

本研究探討緩衝溶液的濃度、有機修飾劑的種類與含量對維生素 C 衍生物之影響，由於有機修飾劑能改變移動相的選擇性及電滲流的大小，而添加 6% 的氫甲烷，6% 的甲醇、異丙醇皆能得到不錯的解析度。

關鍵詞：化妝品，維生素 C，毛細管電泳

Abstract

This project is to evaluate the determination of vitamin C and its derivatives in cosmetic matrix by micellar electrokinetic capillary chromatography. Six compounds were selected as analytes, including Vitamin C, Vitamin C 6-Palmitate, Vitamin C 2, 6 Dipalmitate, Vitamin C 6-Stearate, Vitamin C-2-phosphate and Vitamin C 2-sulfate. Sodium thiosulfate was added in the sample and standard to prevent the decay of vitamin C.

Several factors were evaluated in this study. The result shows the addition of organic

modifiers and β -cyclodextrin can effectively increase the separation efficiency. When 6% organic modifier was added in the separation buffer, All peaks were well resolved.

Keywords: cosmetics, vitamin C, capillary electrophoresis

二、緣由與目的

維生素 C 很早被添加於化妝品中，做為黑色素抑制劑。由於維生素 C 為一強的還原劑，可將阻止已生成的酪胺酸酶進行活化作用，進而阻止黑色素的生成。維生素 C 的穩定性不佳，在空氣中極易氧化。為了使得在化妝品中有足夠的安定性，許多不同種類的維生素 C 衍生物便被添加於化妝品中，常見的如維生素 C 磷酸鎂鹽，維生素 C 棕櫚酯等。

在維生素 C 的分析研究上，大部分的著重於果汁或是藥物上的 ascorbic acid 的含量。而分析的工具具有電化學法[1,2,3]、光譜法[4,5]與層析法[6-8]。前兩者的選擇性不佳，易受到其他物質的干擾，而層析法則是以 HPLC 的方法為最多。部分曾以 CZE 的方式進行分離鑑定。然而亦是以 ascorbic acid 為主[9,10]。Ascorbic acid 與其衍生物的同步分離方法則未曾見到。在化妝品的分析應用方面，Shih 曾以 HPLC 分離 ascorbic acid 與 Kojic acid [11]，曾等人則發展了網版電極的方法測定化妝品中的維生素 C 磷酸鹽 [2]，O'connell 等人則是以電化學法測定化妝品中的 ascorbic acid [13]。

由以上可知，以毛細管電泳對於維生素 C 與其衍生物的同步分離與鑑定方法

尚未見到，因此本研究擬開發以 MECC 測定維生素 C 與其衍生物的方法，由於維生素 C 易於氧化，因此尋找合適的前處理方法，以得到穩定的萃出液亦將是一個重要的課題。

三、實驗方法

本實驗所使用之毛細管柱全長為 57cm，管柱內徑 50 μ m。所選擇的波長為 254 nm。在第一次使用時，在 25 下使用 1M 的 NaOH 洗 30 分鐘，0.1 M 的 NaOH 洗 15 分鐘，純水洗 10 分鐘，再使用所需之緩衝溶液沖洗 10 分鐘，即可開始進行實驗，在每次實驗間皆以 0.1 M 的 NaOH 洗 2 分鐘，純水洗 2 分鐘，再使用所需之緩衝溶液沖洗 2 分鐘，即可施打樣品，當天做完實驗實再以純水洗 15 分鐘。

標準溶液配製以甲醇為溶劑，配製 1000 ug/mL 的儲備溶液，再以緩衝溶液稀釋至所需之濃度。

四、結果與討論

4.1 安定性測試

因維生素 C 極不穩定，且易被氧化，在進行毛細管電泳中，對維生素 C 最困難的是控制維生素 C 的穩定度，所以研究中先針對不同的濃度之溶液來對維生素 C 的穩定度作測試。

由表 1 可以看出不同溶劑對維生素 C 之穩定度的影響，在 H_3PO_4/NaH_2PO_4 pH = 3.0 的情況下，兩小時之後維生素 C 的含量剩下 80 %；使用乙醇，兩小時之後維生素 C 的含量為 98 %，有明顯的增高；使用 H_3PO_4/NaH_2PO_4 pH = 3.0 1 mM EDTA，兩小時之後維生素 C 的含量為 98 %，效果更佳；使用 H_3PO_4/NaH_2PO_4 pH = 3.0 1 mM $Na_2S_2O_3$ ，兩小時之後維生素 C 的含量為 101 %，情況最好。

4.2 SDS 對分離的影響

未添加有機修飾劑，只改變 SDS 與環糊精的含量時，分離效果並不佳，只有在 $Na_2B_4O_7/NaHPO_4$ 20mM SDS 40 mM r-CD15 mM 的條件下，即有明顯的波峰與分

離。

4-3 有機修飾劑對分離的影響

在微胞電動力毛細管層析模式 (MAKC) 中，在緩衝溶液中加入有機修飾劑可以提高分離的選擇性 (22-24)，常用的有機修飾劑有甲醇、氰甲烷等，加入有機修飾劑，可以改變水溶性的極性，因而調節樣品在水與微胞間的分配係數，使分離的選擇性可得到改善，但若有機修飾劑的濃度高於 15 %，由於有機修飾劑改變了微胞 CMC 濃度與性質，將會降低分離效果。因此在本實驗中選擇以氰甲烷、甲醇與異丙醇作為有機修飾劑。圖 3 為添加 4 % 的氰甲烷在不同濃度的 SDS 所做的分離效果，以添加 40 mM 的有不錯的解析，對 $Na_2B_4O_7/NaHPO_4$ 20mM r-CD15 mM SDS 20 mM 的條件下則無法完全的分離出波峰。

由研究結果發現添加 4 % 氰甲烷或是 4 % 甲醇或是 4 % 異丙醇分離出的效果最佳。

