

## · 论著 ·

## 咖啡因口香糖的制备及含量测定研究

樊永正<sup>1</sup>, 张琛<sup>1</sup>, 陈振兴<sup>2</sup>, 刘俊杰<sup>1</sup>, 鲁莹<sup>1</sup>, 钟延强<sup>1</sup>, 邹豪<sup>1</sup> (1. 第二军医大学药学院, 上海 20043; 2. 金百利食品有限公司, 福建 晋江 362216)

**[摘要]** 目的 研制一种新型含咖啡因的口香糖, 并建立其含量测定的方法。方法 建立咖啡因口香糖制备工艺, 首先将咖啡因粉末与糖料均匀混合, 与口香糖胶基调和, 切割挤压, 冷却老化, 包装。建立咖啡因口香糖的含量测定方法, 采用沸水浴加热 1 h 提取口香糖中的咖啡因, 通过高效液相色谱法测定其中咖啡因的含量。结果 制得的咖啡因口香糖含量均匀, 口感较好; 其含量测定方法线性良好, 提取回收率为  $(98.41 \pm 2.02)\%$ , 方法学研究符合测定要求。结论 咖啡因口香糖制备工艺简单, 含量测定的质量可控, 操作简便、快速、准确。

**[关键词]** 咖啡因口香糖; 含量测定; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R944 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)04-0260-04

## Studies on preparation and content determination of caffeine chewing gum

FAN Yong-zheng<sup>1</sup>, ZHANG Chen<sup>1</sup>, CHEN Zhen-xing<sup>2</sup>, LIU Jun-jie<sup>1</sup>, LU Ying<sup>1</sup>, ZHONG Yan-qiang<sup>1</sup>, ZOU Hao<sup>1</sup> (1. School of pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Jinbaili Food Co., Ltd. Jinjiang 362216, China)

**[Abstract]** **Objective** To develop a new type of chewing gum contained caffeine, and a method for determination of caffeine in the chewing gum. **Methods** the caffeine powder and sugar powder were mixed evenly. the mixtures were reconciled with the chewing gum which were then cutted, extruded, cooled and packaged. The caffeine in the gum was extracted by boiling water bath for 1h and caffeine content was determined by HPLC. **Results** This type of gum tasted good and the caffeine contained in the gum was uniform; The calibration curve showed good linearity in the range, and the mean of the extraction recovery rate was  $98.41 \pm 2.02\%$ . Methodology of this study met the requirements of determination. **Conclusion** The technology of caffeine gum was simple and available; the developed HPLC method was easy, rapid, accurate and the quality was under control.

**[Key words]** caffeine chewing gum; determination; HPLC

现实生活中越来越多的人饮用含咖啡因的饮料或茶来提神, 因此含咖啡因成分的咖啡、茶、软饮料及能量饮料十分畅销, 在北美 90% 成年人每天都使用咖啡因。咖啡因是一种黄嘌呤生物碱化合物, 易溶于热水或氯仿中, 在水、乙醇或丙酮中略溶, 乙醚中极微溶解<sup>[1]</sup>。咖啡因能提高细胞内环磷腺苷的含量, 兴奋大脑皮层, 振奋精神, 提高注意力、自信心以及工作效率和积极性; 增强警觉性和减少疲乏感, 提高警惕性和维持持久工作的能力; 增强识别能力, 缩短反应时间。因此, 咖啡因是世界上最普遍被使用的非处方兴奋药, 能够在人疲劳或困倦时帮助恢复警觉或清醒。

《美国联邦行政法典》第 21 卷食品和药品第 1 章第 340 节“人用 OTC 类兴奋药”中规定, 咖啡因为

非处方兴奋药, 咖啡因作为食品添加剂和 OTC 药品在欧美有多种制剂市售, 批准的咖啡因剂型包括片剂、胶囊等, 剂量为 100 ~ 200 mg。在执行紧张激烈任务过程中, 再强悍的士兵也会有精疲力尽的时候, 而这时往往是易于被敌人袭击的最危险时刻。因此, 需要不断寻求能使士兵提高注意力、保持高度兴奋状态的方法。从 2003 年起, 美军就将一种咖啡因含量很高的口香糖发放到战场上进行测试。这种名叫“StayAlert”的口香糖是由美国马里兰州西尔弗斯普林的沃特里德(Walter Reed)研究所研制的。该口香糖能使咖啡因通过口腔黏膜而不是胃进行吸收, 因此咖啡因传递给大脑的速度比普通咖啡、茶或药丸快 3 ~ 4 倍。本课题结合国内条件研制的咖啡因口香糖, 设计剂量为 50 mg/片, 可供广大消费者在疲劳或困倦时使用。研制的咖啡因口香糖吸收和起效快, 滥用低, 并具有舌下吸收迅速, 体积小, 顺应性好等优点<sup>[2,3]</sup>。口香糖主要成分为疏水性的胶基和部分糖类, 其成分较复杂, 本实验主要测定咖啡因口

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项(2008ZXJ09010-001, 2008ZXJ09002-010)。

**[作者简介]** 樊永正(1989-), 男, 药学本科 08 级学员。

**[通讯作者]** 邹豪。Tel: (021)81871287, E-mail: mrzou@sina.com。

香糖中功能性物质咖啡因的含量。由于咖啡因能很好的溶于热水、乙醇、氯仿等溶剂中,本实验选择了最为常见毒性最低的水作为溶剂提取口香糖中的咖啡因。

## 1 实验部分

**1.1 仪器与试剂** BS124S型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);高效液相色谱仪(美国WATERS公司,515 HPLC泵,Rheodyne7725i定量进样器,996 photodiode array检测器,millennium 32色谱数据工作站);DK-S12型电热恒温水浴锅(上海华联医疗器材有限公司);PB-10型pH计(Sartorius普及型pH计),SK-1200H型超声处理器(上海科导超声仪器有限公司)。

口香糖胶基(福建晋江市金百利食品有限公司);咖啡因(山东新华制药股份有限公司,批号0507448);咖啡因标准品(新华制药股份有限公司,批号100101-198403);葡萄糖浆、蔗糖粉、香精、阿斯巴甜、甘油等均为食用级。

### 1.2 咖啡因口香糖的制备工艺研究<sup>[4]</sup>

**1.2.1 粉碎** 将蔗糖粉碎成极细粉,过200目筛后,备用。咖啡因原料过200目筛后备用。

**1.2.2 胶基预处理** 胶基启用前,先置于50~60℃恒温烘箱内保温软化5h。

**1.2.3 配料的混合** 配料的混合分3次进行。首先,将软化后的胶基加入葡萄糖浆混合后,加入1/3糖粉与咖啡因原料的混合物。混合40min,混匀后,再加入1/3糖粉与咖啡因原料的混合物。混合7min后,加入剩余的1/3糖粉与咖啡因原料的混合物及香精,充分混匀。

**1.2.4 挤压** 将混合好的原料冷却至温度低于40℃后,投入切面机中挤压,挤出组织紧密、表面光滑的带状糖胚,重复挤压两次。

**1.2.5 切割成型** 挤压成一定厚度的糖片进行切割成型。

**1.2.6 冷却老化** 老化条件为20℃的温度,干燥10h左右,最后水分含量控制在30%,制得口香糖片达到水分平衡而老化,保证成型工序的顺利进行。

**1.2.7 包装** 将制好的口香糖用涂蜡铝箔纸包装,温度为20℃左右,相对湿度低于55%。

### 1.3 含量样品测定的前处理方法

**1.3.1 超声提取方法的考察** 准确称取剪碎的口香糖适量,分为3份(每份相当于含咖啡因25mg),分别置于100ml锥形瓶中,加入25ml蒸馏水溶解,置于SK-1200H型超声处理器中,分别超声处理0.25、0.5、0.75和1h。超声处理后过滤,滤液置于

50ml容量瓶中;残渣用少量蒸馏水冲洗2~3次后,一并滤入容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀备用。

**1.3.2 超声结合浸泡提取方法的考察<sup>[5]</sup>** 准确称取剪碎的口香糖适量(相当于含咖啡因25mg)1份,置于100ml锥形瓶中,加入25ml蒸馏水溶解,置于SK-1200H型超声处理器中,超声处理0.5h,超声处理的样品浸泡12h,过滤,滤液置于50ml容量瓶中;残渣用少量蒸馏水冲洗2~3次后,一并滤入容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀备用。

**1.3.3 沸水浴提取方法的考察** 准确称取剪碎的口香糖适量(相当于含咖啡因50mg)于100ml锥形瓶中,加入50ml热水(温度为100℃),摇匀后立即放入沸水浴中0.25、0.5、1、1.5和2h,趁热过滤,滤液置于50ml容量瓶中;残渣用少量蒸馏水冲洗2~3次后,一并滤入容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀备用。

### 1.4 测定方法的研究

**1.4.1 标准储备液的配制** 精密称取咖啡因对照品50mg置于50ml容量瓶中,加蒸馏水溶解定容,制成1mg/ml的对照品储备液。

**1.4.2 对照品溶液制备** 精密称取常温减压干燥至恒重的咖啡因对照品50mg,置于250ml量瓶中,用蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀;即得每1ml含0.2mg咖啡因的对照品溶液。

**1.4.3 供试品溶液制备** 取本品10片,剪碎混匀,精密称取适量(约相当于咖啡因25mg),于100ml锥形瓶中,加入25ml热水(温度为90℃),摇匀后立即放入沸水浴中1h,趁热过滤,滤液置于50ml容量瓶中;残渣用少量蒸馏水冲洗2~3次后,一并滤入容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。精密移取4ml置于10ml容量瓶中,用蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀备用。

**1.4.4 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(150mm×4.6mm 5μm),流动相参照美国药典29版,0.01mol/L醋酸钠溶液:四氢呋喃:乙腈的体积比为191:4:5,流速为1.0ml/min,柱温为室温,检测波长为275nm,进样20μl,采样时间为20min,理论塔板数不得低于1200。

**1.4.5 测试法** 分别取供试品溶液和对照品溶液各20μl,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,按外标一点法计算供试品中咖啡因含量。

## 2 结果与讨论

**2.1 咖啡因口香糖的制备** 本实验在配料混合时,将咖啡因与糖粉混和,经过将胶基预处理、配料的混合、挤压、冷却老化、切割成型、包装等步骤,最终制

得咖啡因口香糖。

感官指标评价如下:①外观:糖体外观完美,表面光滑;②色泽:咖啡色,均匀一致;③气味:香气适中,无异味;④口感:不糊口,不粘牙,咀嚼韧性好,易成团。

**2.2 提取方法选择** 本研究采用超声提取、超声处理后浸泡12 h、沸水浴提取3种方法,从口香糖中提取咖啡因,3种提取方法以及不同提取时间的提取效率见图1。由图1分析得:3种提取方法中简单的超声提取效率较低,其中超声提取1 h的提取率仅为(85.22±2.39)%,超声处理1.5 h后浸泡12 h能够提取完全口香糖中的咖啡因,提取率为(102.97±0.86)%,沸水浴提取研究表明:提取的百分含量随提取时间先升高后下降;沸水浴1 h提取百分率为(100.08±1.65)%;此外,沸水浴2 h提的百分含量要明显低于1和1.5 h的提取百分率,原因可能是加热时间过长,咖啡因会降解的缘故。

实验结果表明,沸水浴条件下提取的百分率要高于超声提取,而提取时间优于超声处理后浸泡12 h的提取工艺,说明沸水浴条件下口香糖中咖啡因提取的较为完全,而且操作时间短,相对标准偏差也较小。故采用沸水浴1 h的提取条件下来提取口香糖中的咖啡因。

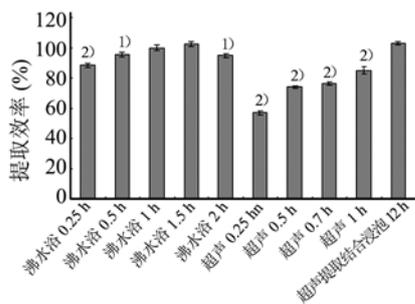


图1 提取方式(时间)与提取效率的关系

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与沸水浴提取60 min比较对照。

**2.3 含量测定的方法学考察**

**2.3.1 色谱条件的选择** 根据 USP29 版标准,结合仪器的实际情况,尝试了乙腈-甲醇-水、甲醇-水、甲醇-缓冲盐溶液等流动相,表明有机相的种类和比例对咖啡因的分离影响较大。综合考虑分离效果、分析时间,最终确定 0.01 mol/L 醋酸钠溶液-四氢呋喃-乙腈的体积比为 191 : 4 : 5 作为流动相。通过波长扫描确定咖啡因的最大吸收波长为 275 nm,以此作为检测波长。试验表明,咖啡因与其他杂质能达到基线分离,15 min 内可以完成分析测定(图 2~3)。

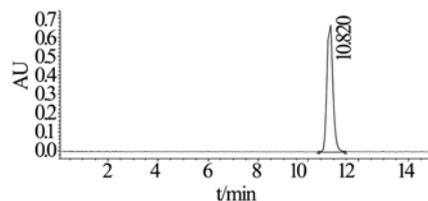


图2 咖啡因标准品的色谱图

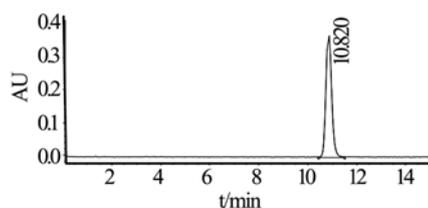


图3 咖啡因口香糖样品的色谱图

**2.3.2 绘制标准曲线** 分别精密量取咖啡因标准储备液 1.2、1.4、1.6、2.0、2.2、2.4、2.6 ml 置于 10 ml 容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,配置成 121.2、141.4、161.6、202.0、222.2、242.4、262.6 μg/ml 的咖啡因标准液,进样分析。以样品浓度  $C$  为横坐标,峰面积  $A$  为纵坐标做标准曲线,测得咖啡因含量在 121.2 ~ 262.6 μg/ml 范围内,具有良好的线性关系。回归方程为  $A = 57163C + 486567$  ( $n = 7$ )。相关系数  $r = 0.9998$ 。结果见表 1。

表1 咖啡因含量测定标准曲线及其线性回归结果

C(μg/ml)	A(峰面积)
121.2	7 403 773
141.4	8 606 939
161.6	9 685 563
202.0	12 058 681
222.2	13 224 930
242.4	14 239 197
262.6	15 551 697

**2.3.3 精密度实验** 取同一批号(20101125)样品,照样品测定项下的方法,同法操作,重复测定 8 次,结果 RSD 为 1.83% ( $n = 8$ )。表明重复性良好。

**2.3.4 回收率实验** 精密称取咖啡因对照品约 20、25、30 mg 各 3 份,置 50 ml 量瓶中,加入适量的咖啡因口香糖,照样品测定项下的方法,同法操作,各重复测定 3 次。相当于测定浓度 80%、100%、120% 的溶液做为样品溶液。对其中 3 份样品进行加标回收试验,结果如表 2 所示。

**2.3.5 稳定性试验** 取同一供试品,分别在 0、2、4、6、8 h 分别测定,结果如表 3 所示。RSD < 3%,表明样品在 8 h 内稳定。

(下转第 268 页)

inhibited cation-mediated gene transfer[J]. *J Gene Med*, 2004, 6(4):405.

[2] Reinisalo M, Ruponen A, Urtti A. Polyplex-mediated gene transfer and cell cycle; effect of carrier on cellular uptake and intracellular kinetics and significance of glycosaminoglycans[J]. *J. Gene Med*, 2007, 9(6):479.

[3] Charudharshini S, Diane B. Optimization and characterization of anionic lipoplexes for gene delivery[J]. *J. Controlled Release*, 2009, 136(1):62.

[4] Mignet N, Richard C, Scherman D, et al. Anionic pH-sensitive polyplexes to deliver DNA to tumors[J]. *Int J Pharm*, 2008, 361(1-2):194.

[5] Julia Lehtinen, et al. Glycosaminoglycan-resistant and pH-sensitive lipid-coated DNA complexes produced by detergent removal method[J]. *J. Controlled Release*, 2008, 131(2):145.

[收稿日期]2011-01-04

[修回日期]2011-03-15

(上接第262页)

表2 咖啡因含量测定的回收率实验结果

加入量 (mg)	基底值 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
80%	19.8	27.76	47.79	101.18	
	19.8	27.76	47.91	101.77	
	19.8	27.76	46.96	96.98	
100%	25.9	26.43	51.06	95.08	
	25.9	26.43	51.76	97.80	98.41
	25.9	26.43	52.01	98.75	2.06
120%	30.1	26.83	56.29	97.88	
	30.1	26.83	56.31	97.96	
	30.1	26.83	56.43	98.33	

表3 咖啡因含量测定稳定性实验结果

间隔时间(h)	峰面积	平均值(峰面积)	RSD(%)
0	6 796 785		
2	6 392 848		
4	6 342 218	6 462 479	2.92
6	6 375 117		
8	6 405 428		

**2.3.6 样品的含量测定** ①供试品溶液制备:取本品8片,剪碎混匀,精密称取适量(约相当于咖啡因25 mg),于100 ml锥形瓶中,加入25 ml热水(温度为90 ℃),摇匀后立即放入沸水浴中1 h,然后趁热过滤,残渣用少量热水冲洗2~3次后。待溶液冷却后一并滤入至100 ml的容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀备用。②对照品溶液制备:精密称取常温减压干燥至恒重的咖啡因对照品50 mg,置于250 ml量瓶中,用蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀;即得每1 ml含0.2 mg咖啡因的对照品溶液。分别取供试品溶液和对照品溶液各20 μl,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,按外标一点法计算供试品中咖啡因的含量。

3批样品的含量测定结果分别为标示量的100.87%,103.37%,101.45%,结果表明本研究所制备的3批咖啡因口香糖样品含量符合规定。

### 3 结论

**3.1 军人面临许多增加不眠的情况,包括:站岗、展开相关的活动、在紧急情况时的空运、雷达和声纳监测、潜水艇值班和战斗,这些任务的表现受到长期不能睡觉的影响,在这些情况之下,个人必须表现出复杂的认知能力。大量的研究表明咖啡因能够改善睡眠剥夺的症状、增强认知表现,增强工作的准确度、减少听觉和视觉不眠症的药效存在剂量依赖性,而且,还能显著增强活力和减少疲倦、低落和敌意。我军有必要借鉴美军军队营养研究委员会(CMNR)的科学结论,在执行长时间任务时使用咖啡因制剂。鉴于国人的饮食习惯中,咖啡因采用食品形式摄取不易实现,口香糖形式的给药方式较为可行。**

**3.2 采用沸水浴条件下加热提取1 h来提取口香糖中的咖啡因,相比超声提取和超声后再浸泡提取而言,操作简单易行,提取完全,耗时短。并参照美国药典,使用HPLC法对咖啡因的有关物质和含量测定,该方法分离效果好,灵敏度和准确度均较高,适用于口香糖中咖啡因含量的测定。**

### 【参考文献】

[1] 中国药典2010版.二部[S].2010:461.

[2] 刘职瑞,叶显撑,王芳,等.咖啡因口崩片的研究[J].*药学实践杂志*,2009,27(3):179.

[3] Gary H K, Chetan S K, Ronald O, et al. The rate of absorption and relative bioavailability of caffeine administered in chewing gum versus capsules to normal healthy volunteers[J]. *Int J Pharm*, 2002, 234(1-2):159.

[4] 李楠,杨明.清咽口香糖的研制[J].*食品工业科技*, 2006,27(01):107.

[5] 施燕支,郭雪清,余启荣,等. HPLC示差折光分析法测定口香糖中的木糖醇等多种糖醇的含量[J].*首都师范大学学报(自然科学版)*, 2005,26(1):62.

[收稿日期]2011-01-27

[修回日期]2011-02-21