

高效液相色谱测定保健食品中的辅酶 Q10

LC-085

摘要：本文建立了岛津高效液相色谱仪测定保健食品中辅酶 Q10 的方法。采用正己烷提取试样中的辅酶 Q10，无水乙醇稀释，过滤后进高效液相色谱分析。本方法在 4.0~50 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内，线性关系良好，相关系数 r^2 为 0.9999。对浓度为 4.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液进行重复性实验，连续 5 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.02% 和 0.27%。方法检测限为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词：高效液相色谱保健品辅酶 Q10

衰老的自由基学说最早由英国 Harman 于 1956 年提出，此学说认为在生命活动过程中产生的自由基对生物大分子、细胞器、细胞等累积性氧化损伤，导致组织损伤和器官功能衰退，诱导及加速机体衰老。辅酶 Q10，又称泛醌，它是细胞自身产生的天然抗氧化剂和细胞代谢激活剂。它的作用是清除氧自由基、维护线粒体结构和功能完整性、稳定细胞膜、抑制自由基形成和增强免

疫活性，在生物体细胞呼吸和能量代谢、增强人体免疫力和抗肿瘤、抗氧化以及治疗心血管疾病方面具有独特的功能和疗效。因此除了用作辅助药物预防感冒、延缓衰老和提高机体免疫力之外，还被广泛用于保健品中。

本文建立了抗衰老类保健食品中有效成分辅酶 Q10 的方法，为科学的评价保健食品提供有效的参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津 Prominence 高效液相色谱仪 LC-20A。具体配置为 LC-20AT \times 2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20A 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，SPD-20A 紫外检测器，CBM-20Alite 系统控制器，LCsolution 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱 Inertsil ODS-4 Column 4.6 I.D. \times 150 mm L., 5 μm

流动相：A 相 - 乙腈

B 相 - 四氢呋喃 / 水 = 40/5 (v/v)

流速：1.0 mL/min

柱温：30 $^{\circ}\text{C}$

进样量：10 μL

洗脱方式：等度洗脱，A/B=55/45(v/v)

检测波长：280 nm

1.3 标准品溶液的配制

称取辅酶 Q10 10 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中，加正己烷稀释至刻度，储备液在避光条件下 4 $^{\circ}\text{C}$ 于冰箱中可保存 3 天。

分别吸取适量储备液，用正己烷 - 无水乙醇 (1+9) 的混合溶剂稀释并在棕色容量瓶中定容，最终浓度分别为 4.0 $\mu\text{g/mL}$ ，10 $\mu\text{g/mL}$ ，20 $\mu\text{g/mL}$ ，40 $\mu\text{g/mL}$ ，50 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.4 样品前处理

参照《保健食品中辅酶 Q10 的测定》(GB/T 22252-2008) 中方法。称量 1 g 均匀试样(精确至 0.001 g)，置于 25 mL 棕色容量瓶中，加正己烷 20 mL，超声提取 20 min 后，加正己烷至刻度，摇匀。量取 1.0 mL 上述溶液于 10 mL 棕色容量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，混匀，用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后至样品瓶中，待上机测试。

结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

辅酶 Q10 标样的色谱图如图 1 所示。

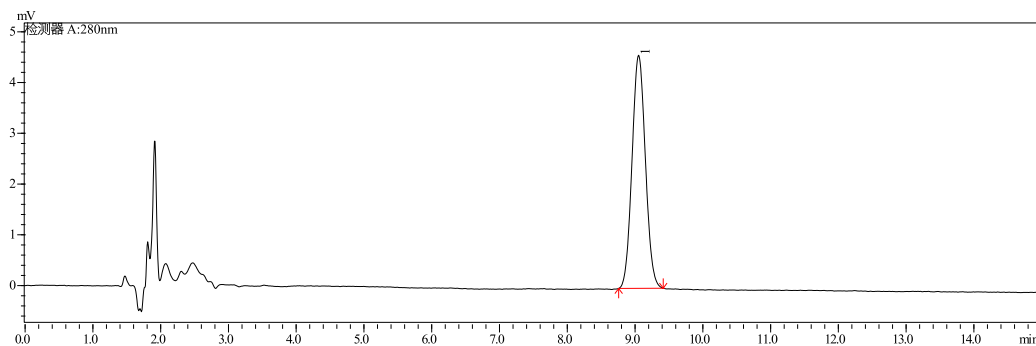


图 1 4.0 μg/mL 辅酶Q10的色谱图

2.2 线性范围

将浓度为 4.0 μg/mL, 10.0 μg/mL, 20.0 μg/mL, 40.0 μg/mL, 50.0 μg/mL 的标准溶液按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制工作曲线。结果表明, 在此范围内, 线性关系良好, 线性曲线为 $Y = (13012)X + (4972)$, 相关系数 $r^2 = 0.9999$ 。

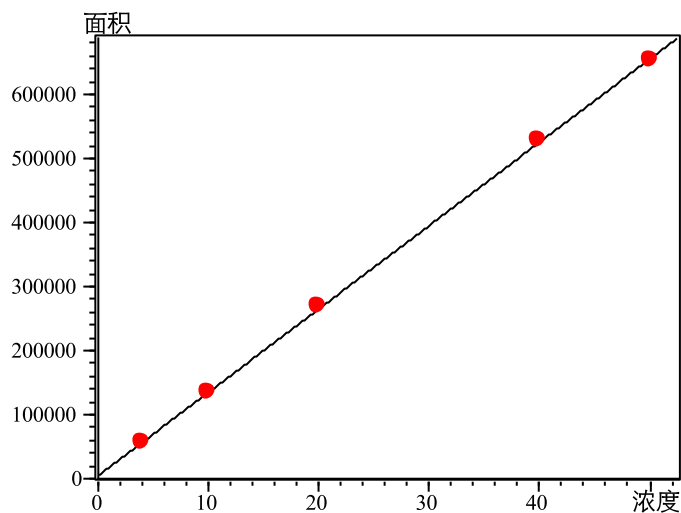


图 2 辅酶 Q10 校准曲线

2.3 精密度实验

取 4.0 μg/mL 混合标准工作液连续测定 5 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 1 所示。结果显示: 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.02% 和 0.27%, 仪器精密度良好。

表 1 辅酶 Q10 保留时间、峰面积重现性

	Retention Time	Peak Area
N=1	9.020	56,632
N=2	9.019	56,259
N=3	9.016	56,257
N=4	9.016	56,376
N=5	9.017	56,437
Ave.	9.018	56,392
RSD%	0.020	0.274

2.4 灵敏度实验

分析辅酶 Q10 (4.0, 10, 20, 40, 50 $\mu\text{g/mL}$) 的标准溶液, 利用工作站软件计算其检测限 ($S/N=3$) 及定量限 ($S/N=10$), 分别为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.11 $\mu\text{g/mL}$ 。配制浓度为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 辅酶 Q10 的标准工作溶液分析, 结果如图 3 所示。

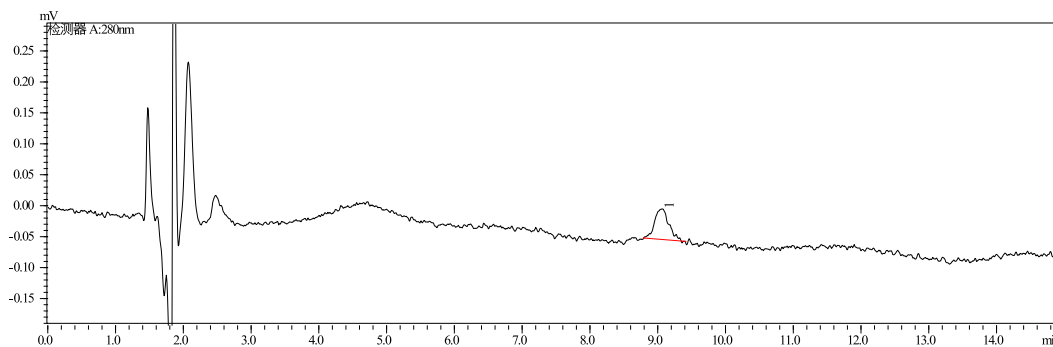


图 3 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 辅酶 Q10 色谱图

2.5 实际样品检测结果

考察某种市售保健食品中辅酶 Q10 的含量, 色谱图如图 4 所示, 检测结果为 14.95 $\mu\text{g/mL}$, 经计算, 保健食品中辅酶 Q10 的含量为 3.7 mg/g 。

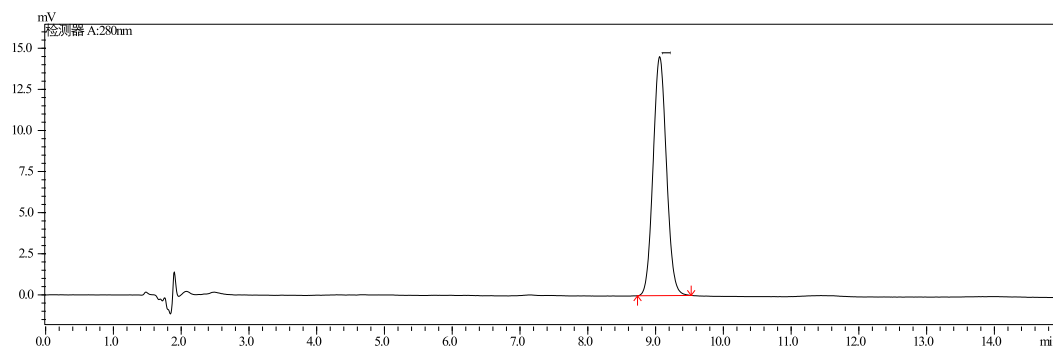


图 4 市售保健食品色谱图

结论

本文建立了岛津高效液相色谱仪测定保健食品中辅酶 Q10 的方法。该方法在 4.0~50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好, 相关系数在 0.9999 以上, 标准样品连续 5 次测定, 峰面积的相对标准偏差小于 0.3%, 精密度良好, 方法检测限为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。本方法操作简单, 可有效地检测保健食品中辅酶 Q10 的含量。