

· 论 著 ·

## HPLC 辅助滴定法测定含辅酶 Q10 保健食品中过氧化值

何小稳<sup>1\*</sup>, 黎承<sup>2</sup>, 鲁燕妮<sup>2</sup>, 曾德斌<sup>2</sup>, 邢奇芬<sup>2</sup>

**摘要** :目的 通过研究含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值含量偏高的现象,建立了一种可排除辅酶 Q10 干扰的 HPLC 辅助滴定法测定该类样品中过氧化值的方法。方法 采用 GB/T5009.56 中方法提取辅酶 Q10 软胶囊中的油脂, HPLC 法测定油脂中辅酶 Q10 的含量,并采用 GB/T5009.37 中硫代硫酸钠滴定法分别滴定油脂和辅酶 Q10 的过氧化值,通过计算排除辅酶 Q10 的干扰达到测定含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值的目的。结果 HPLC 方法中辅酶 Q10 在 2.00~32.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $r=0.9998$ ) 的范围内线性关系良好。所建的 HPLC 辅助滴定法通过植物油中添加定量的辅酶 Q10 标准品验证了所建方法的可行性,含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值含量的加标回收率为 98.4%, RSD 为 0.88%。结论 该方法排除了辅酶 Q10 的干扰,解决了该类样品中过氧化值含量偏高的问题,结果准确,适用于含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值的测定。

**关键词** 辅酶 Q10; 过氧化值; HPLC; 滴定法

中图分类号: R155.5 文献标识码: A 文章编号: 1009-9727(2013)2-141-03

Determination of peroxide value in soft capsule containing coenzyme Q10 by titration combined with HPLC. HE Xiao-wen<sup>1</sup>, LI Cheng<sup>2</sup>, LU Yan-ni<sup>2</sup> et al. (1. Hainan Medical University Haikou 571199; 2. Hainan Provincial Center for Disease Control and Prevention Haikou 570203 Hainan P. R. China)

**Abstract** :Objective To determine peroxide value in soft capsule containing coenzyme Q10 by studying the high peroxide value in these samples. Methods The HPLC was used to determining the content of coenzyme Q10 in the grease in soft capsule containing coenzyme Q10 based on GB/T5009.56 and sodium thiosulfate titration method was used to determine the peroxide value in soft capsule coenzyme containing Q10 was obtained by getting rid of the interference based on GB/T5009.37. Results A good linear relation was obtained in the range of 2.00~32.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for coenzyme Q10 ( $r=0.9998$ ) by HPLC. The feasibility of HPLC auxiliary titration method was verified by adding quantitative coenzyme Q10 in oil. The recovery was 98.4% with the relative standard deviations of 0.88%. Conclusions The proposed method is proved to be accurate with no interference of coenzyme Q10. It is suitable for the determination of peroxide value in soft capsule containing coenzyme Q10.

**Key words** :Coenzyme Q10; Peroxide value; HPLC; Titration

辅酶 Q10 是一种脂溶性抗氧化剂,是人类生命不可缺少的重要元素之一,具有提高人体免疫力、延缓衰老、增强抗氧化和人体活力等功能,因此被广泛用于营养保健品及食品添加剂治疗心血管系统疾病<sup>[1]</sup>。辅酶 Q10 软胶囊是由辅酶 Q10、大豆油、蜂蜡等原料经软胶囊的制备工艺制成的具有增强免疫力功能的保健食品,因其基质为油脂,为控制该类保健食品的质量,应对其中过氧化值进行检测。目前保健食品中过氧化值的测定最常用的为 GB/T5009.37 中硫代硫酸钠滴定法<sup>[2]</sup>,但通过试验研究发现采用直接滴定法测定含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值的结果偏高,其主要原因是辅酶 Q10 与碘化钾发生了氧化还原反应生成大量碘,造成“假阳性”结果<sup>[3]</sup>。本研究

通过植物油中添加定量的辅酶 Q10 标准品厂所建方法的可行性,最终建立了先采用 HPLC 法测定油脂中辅酶 Q10 的含量,再采用滴定法分别测定油脂和辅酶 Q10 的过氧化值,通过去除辅酶 Q10 的干扰达到了测定含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值的目的。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 日立 Hitachi L-2000 型高效液相色谱仪,包括电源供应装置、二极管阵列检测器 L-2455、柱温箱 L-2300、自动进样器 L-2200、泵 L-2130、D-2000 Elite 系统管理器。色谱柱:Gemini 5 $\mu$  C18 110A (广州菲罗门科学仪器有限公司) (250 $\times$ 4.6mm, 5 $\mu$  m)。RE-2000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHB-III 型循环水式真空泵(郑州长城

作者单位: 1.海南医学院 海南 海口 571199; 2. 海南省疾病预防控制中心 海南 海口 570203

作者简介: 何小稳(1985~),女,河北唐山人,汉族,硕士研究生,初级药师,主要从事保健食品及药物的质量控制与研究。

\* 通讯作者 E-mail: xiaowen\_he@126.com

科工贸有限公司) ;SPRING R20 型纯水系统(锐思捷科学仪器有限公司)。辅酶 Q10 软胶囊由海南某企业提供 ,400mg/粒× 100 粒 / 瓶 ;辅酶 Q10 标准品由北京惠康源生物科技有限公司提供 ,含量≥ 98.0% ;食用植物油(市售花生油 ,批号 20110706) ;石油醚、三氯甲烷、冰乙酸、碘化钾、硫代硫酸钠、可溶性淀粉 均为分析纯 ;甲醇、乙醇为色谱纯 ,水为重蒸水。

1.2 方法

1.2.1 辅酶 Q10 软胶囊中油脂的提取 按照 GB/T5009.56- 2003 中方法<sup>[4]</sup>进行。

1.2.2 油脂中辅酶 Q10 的含量测定 参考中国药典方法<sup>[5]</sup>及实验条件摸索 ,最终确立了油脂中辅酶 Q10 的含量测定方法。取辅酶 Q10 标准品适量 ,精密称定 ,用乙醇溶解并制成标准系列溶液 ,精密称取提取后的油脂约 0.02g 置 10mL 容量瓶中 ,加适量乙醇溶解 50℃ 水浴中振荡溶解 ,放冷后用乙醇稀释至刻度 ,摇匀得样品储备溶液 ,再稀释 25 倍得样品溶液。分别取 10 μL 的标准系列溶液、样品溶液注入液相色谱仪 ,按以下色谱条件检测 ,色谱柱 :Gemini C18 柱 (250× 4.6mm 5μm) ,流动相 :甲醇 - 乙醇 (10 :90) ;流速 :1.0mL/min 检测波长 275nm 柱温 35℃。记录色谱图 ,按外标标准曲线法以峰面积计算油脂中辅酶 Q10 的含量。

1.2.3 过氧化值的测定 按照 GB/T5009.56- 2003 中方法进行。

2 结果

2.1 计算公式

$$P = \frac{C \times (V_1 - V_0)}{m_1}$$
$$X = \frac{C \times (V_1 - V_0) - m \times X_2 \times P}{m \times (1 \times X_2)} \times 1000$$

式中 :

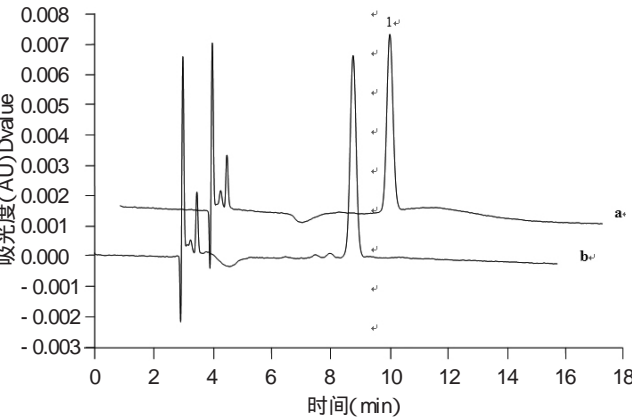
- P—每克纯辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的毫摩尔数 ,单位为毫摩尔每千克 (mmol/kg) ;
- V<sub>1</sub>—纯辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液体积 ,单位 mL ;
- V<sub>0</sub>—试剂空白消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液体积 ,单位 mL ;
- C—硫代硫酸钠标准滴定溶液的实际浓度 ,单位 mol/L ;
- m<sub>1</sub>—辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品的质量 ,单位 g ;
- X—样品的过氧化值 ,单位为毫克当量每千克 (meq/kg) ;
- V—样品消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液体积 ,单位 mL ;
- X<sub>2</sub>—样品中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量 ,单位为克每百克 (%) ;
- m—样品的质量 ,单位 g。

2.2 过氧化值测定 采用 1.2.3 项下方法测定空白食用植物油、纯辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品、加 10%辅酶 Q<sub>10</sub> 的食

用植物油的过氧化值平均值分别为 8.29meq/kg、1211.0meq/kg 和 8.16meq/kg。

从纯辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品的过氧化值检测中可以计算出 P 值 ,P=1.211。从以上结果中可以计算出含辅酶 Q<sub>10</sub> 的油类样品过氧化值含量的平均回收率为 98.4% ,RSD 为 0.88% (n=3) ,说明只要检测出油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量即可排除其造成的干扰 ,避免出现假“阳性”结果。因此可以采用 HPLC 法测定辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊提取后油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量 ,并采用滴定法测定该类样品中过氧化值的含量。

2.3 辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量测定结果 按 1.2.1 项下方法提取辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊中油脂 ,按 1.2.2 项下方法检测油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量 ,辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品和样品溶液的色谱图见图 1。辅酶 Q<sub>10</sub> 的出峰时间 t<sub>R</sub>=8.39min ,回归方程为 A=4.61× 10<sup>3</sup>C-1.43× 10<sup>3</sup> (r=0.9998) ,辅酶 Q10 在 2.00~32.0μg·mL<sup>-1</sup> 的范围内线性关系良好 ,按外标标准曲线法以峰面积计算油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量 χ<sup>2</sup> 为 9.83% ,RSD 为 0.26% (n=6)。



1—辅酶 Q<sub>10</sub> (coenzyme Q<sub>10</sub>)

图 1 辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品溶液(a)和样品溶液(b)的 HPLC 图  
Fig 1 HPLC chromatograms of standard solution (a) and sample solution(b)

2.4 辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊中过氧化值的测定结果 按 1.2.1 项下方法提取辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊中油脂 ,按 1.2.3 项下方法测定辅酶 Q10 软胶囊中过氧化值 ,并按 2.1 项下计算公式计算 ,结果见表 1。

表 1 辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊中过氧化值的测定结果  
Table 1 Results of peroxide value in soft capsule containing coenzyme Q<sub>10</sub>

样品序号 Sample	称样量 m(g) Amount (g)	过氧化值 PeroxideX (meq/kg)	过氧化值的平均值 Mean peroxide X (meq/kg)
1	2.005	4.19	4.20
2	2.014	4.17	
3	2.025	4.24	

## 3 讨论

含油脂类的保健食品在储藏期间受到光、热、空气中的氧以及油脂中的水分和酶的作用,其中的不饱和脂肪酸常被氧化,形成活性很强的过氧化物,进而聚合或分解,产生醛、酮和低分子量的有机酸类<sup>[6]</sup>。过氧化物是油脂酸败的中间产物,因此常以过氧化物在油脂中的产生作为油脂开始败坏的标志。过氧化值则作为判定保健食品储存品质的控制指标。由于保健食品的成分复杂,在保健食品过氧化值的样品前处理和检测过程中常会遇到很多问题<sup>[7]</sup>,而含辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊保健食品因油溶性的辅酶 Q<sub>10</sub> 与碘化钾发生反应,其醌式结构还原成酚式结构,碘化钾被氧化成游离碘,造成了该类保健食品过氧化值偏高的结果。为进一步完善含辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊保健食品中过氧化值的检测方法,本研究建立了采用 HPLC 法测定该类样品提取后油脂中辅酶 Q<sub>10</sub> 的含量,并采用滴定法分别测定油脂和辅酶 Q<sub>10</sub> 的过氧化值,计算扣除辅酶 Q<sub>10</sub> 的干扰,方法简单准确,为以后含辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊保健食品中过氧化值的检测提供了新的方法。

本研究中油脂的过氧化值检测参照 GB/T5009.37 的碘量法进行,但该方法易受多种因素影响<sup>[8]</sup>,所以操作中应严格控制好各种实验条件。另外,虽然每克纯辅酶 Q<sub>10</sub> 标准品消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的毫摩尔数(即 P 值)应该是固定的,但每个人在实验中滴定时振摇力度不同、加入淀粉指示剂的时间不同等等人为因素也会造成试验结果的差异,因此建议在做含辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊保健食品中过氧化值的检测时最好平行做 P 值,以得到更加准确的过氧化值。

参考文献:

- [1] Ma J, Shi N. Review on development of coenzyme Q10 in the food industry[J]. Food Sci Technol, 2009, 34(2): 18-21. (In Chinese) (马菊, 石宁. 食品中应用辅酶 Q10 的研究进展 [J]. 食品科技, 2009, 34(2): 18-21.)
- [2] GB/T5009.37-2003. Method for analysis of hygienic standard of edible plant oils[S]. (In Chinese) (GB/T5009.37-2003. 食用植物油卫生标准的分析方法[S].)
- [3] Yang J, Fang CR, Yang DJ et al. Discussion on method of determining peroxide value in soft capsule containing coenzyme Q10 [J]. Chin J Hlth Lab Technol, 2010, 20(5): 1056-1058. (In Chinese) (杨杰, 方从容, 杨大进, 等. 含辅酶 Q10 软胶囊保健食品中过氧化值方法测定的讨论 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(5): 1056-1058.)
- [4] GB/T5009.56-2003. Method for analysis of hygienic standard of pastry[S]. (In Chinese) (GB/T5009.56-2003. 糕点卫生标准的分析方法[S].)
- [5] Pharmacopoeia of People's Republic of China, edition 2[S]. Beijing, China Medical Science and Technology Press, 2010, 883. (In Chinese) (中华人民共和国药典, 2010 年版. 二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 883.)
- [6] Li SG, Xue WT, Zhang H. Research progress in analysis methods of peroxide value in edible oils [J]. Food Oil, 2007, 7: 35-38. (In Chinese) (李书国, 薛文通, 张惠. 食用油脂过氧化值分析检测方法研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007, 7: 35-38.)
- [7] Yi P, Yu B, Hua ZG. Discussion on method of determining peroxide value in health food [J]. Chin J Hlth Lab Technol, 2012, 22(1): 180-181. (In Chinese) (伊萍, 余波, 华正罡. 保健食品过氧化值测定方法的探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(1): 180-181.)
- [8] Sun P, Qiao JC, Sun XF. Effect on Determination of Peroxide Value in Oils and Fats by Different Factors [J]. Trop Agri Technol, 2011, 35(3): 1-3. (In Chinese) (孙鹏, 乔俊程, 孙先锋. 不同因素对油脂中过氧化值测定的影响 [J]. 热带农业工程, 2011, 35(3): 1-3.)

收稿日期: 2012-09-05 编辑: 符式刚

(上接第 136 页)

刊 1 号) 60-66.)

- [5] Lin XQ, Huang DH, Qin SY et al. Molecule epidemiological study on a plasmid profile obtained from Guangxi Yersinia pestis[J]. Chin J Endemiol, 2005, 24(5): 482-484. (In Chinese) (林新勤, 黄德惠, 秦石英, 等. 广西鼠疫耶尔森菌质粒图谱及分子流行病学意义[J]. 中国地方病学杂志, 2005, 24(5): 482-484.)
- [6] Ye F, Li JY, Yin JX. An analysis of plasmid profile and epidemiological significance of Yersinia pestis isolated from the south and south-east of Yunnan province[J]. Chin J endem dis, 1999, 14(1): 9-11. (In Chinese)

(叶枫, 李俊勇, 尹家祥. 云南省南部及东南部鼠疫菌质粒图谱分析及其流行病学意义[J]. 中国地方病防治杂志, 1999, 14(1): 9-11.)

- [7] Dong XQ, Peng HB, Ye F et al. Study on the Category of Plasmid DNA and Molecular Epidemiology of Yersinia pestis Isolated from Yunnan Natural Plague Foci[J]. Endem Dis Bull, 1994, 11(4): 58-63. (董兴齐, 彭何碧, 叶枫, 等. 云南省鼠疫疫源地鼠疫菌质粒 DNA 种类及分子流行病学研究[J]. 地方病通报, 1994, 11(4): 58-63.)

收稿日期: 2012-10-26 编辑: 符式刚