

电化学分析法测定植物油中的 VE

李书国^{1,2}, 陈 辉², 李雪梅², 薛文通^{1,*}, 张 惠¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100086, 2. 河北科技大学食品科学系, 河北 石家庄 050018)

摘 要: 利用循环伏安技术研究了 α -生育酚在玻碳电极上的伏安性质, 其循环伏安图表明, 在 0.2~0.8V 扫描电位范围内, 在 0.576V 处出现一个良好的氧化峰, 无还原峰出现, 表明 α -生育酚的电极反应是一个非可逆过程, 是一个由扩散控制的电极反应过程。基于 α -生育酚的电化学氧化机理, 研究了 α -生育酚的电化学分析法。利用微分脉冲伏安技术, 研究确定了 α -生育酚的最优分析条件: 1,2 二氯乙烷与乙醇(1:3)组成混合溶剂, 支持电解质 LiClO_4 的浓度为 0.05mol/L, pH 值为 3.0, 电位扫描速度为 10mV/s, 脉冲幅度为 50mV; 在 5~350 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, α -生育酚的氧化峰电流与其浓度表现为线性关系, $I_p=0.2872+0.01852 \times C_{\alpha-T}$, (相关系数 $r=0.9997$), 检测灵敏度为 $1.852 \times 10^{-8} \text{AL/mol}$, 最低检测为 1.5 $\mu\text{mol/L}$ ($S/N=3$), 每个样品分析所需时间 80s。同时研究了植物油中常用合成抗氧化剂对 α -生育酚的电化学分析法可能存在的干扰, 最后通过电化学分析法与 HPLC 法分析同一油样中 VE 的含量并进行对比, 结果表明该法所测得的 VE 的含量与 HPLC 法测得的 α -、 β -、 γ -、 δ -生育酚的总和一致, 可用于植物油中 VE 的定量分析, 无需任何油样预处理程序, 操作简单, 分析快捷、准确。

关键词: VE; 植物油分析; 伏安技; 电极

Determination of Vitamin E in Vegetable Oils by Differential Pulse Voltammetry

LI Shu-guo^{1,2}, CHEN Hui², LI Xue-mei², XUE Wen-tong^{1,*}, ZHANG Hui¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Department of Food Science, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: The voltammetric behavior of α -tocopherol in the presence of vegetable oil has been investigated at a glass carbon electrode in a 1,2 dichloroethane-ethanol medium with cyclic voltammetry. Cyclic voltammogram of α -tocopherol showed a well-defined oxidation peak at 0.576V, no cathodic peak observed. The oxidation process of the α -tocopherol is a typical diffusion-controlled current process. The optimum analytical parameters were obtained: the mixture of 1,2-dichloroethane and ethanol (1:3) as solvent, 0.05 mol/L LiClO_4 and pH 3.0, the instrumental parameters: 10 mV/s of scan rate and 50 mV of pulse height. Using differential pulse voltammetry, the peak currents were found to increase linearly with the α -tocopherol concentration over the range of 5.0 to 350 $\mu\text{mol/L}$, with a sensitivity of $1.852 \times 10^{-8} \text{AL/mol}$ and the limit of detection of 1.5 $\mu\text{mol/L}$ ($S/N=3$), the detection time being 80 s for each assay. The interference of other synthetic antioxidants such as TBHQ, BHA and BHT to the analysis of α -tocopherol was studied. The developed method is applied to the quantification of α -tocopherol in four vegetable oils, showing that the results are in agreement with the results by HPLC method. It could be used as a simple, rapid and practical method for the quantification of tocopherols in vegetable oils without any sample pretreatment.

Key words α -tocopherol; vegetable oil analysis; voltammetry; glass carbon electrode

中图分类号: TS201.24 Q566

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)03-0369-05

VE 又称生育酚(tocopherol)是最早发现的维生素之一, 又是一种天然的、无毒的、强有效的酚类抗氧化剂, 在食品、药品、化妆品等工业有着广泛的应用。快速、准确分析确定食用油及含油食品的 VE 含量对其营养品质评价及稳定性评估相当重要^[1]。

植物油中 VE 的测定方法很多, 主要有分光光度法、荧光法、气相色谱法、高效液相色谱法等^[2], 这些方法检测精度虽高, 但样品前处理复杂, 所需药品多, 耗时长^[3]。

微分脉冲伏安法具有分析速度快、灵敏度较高及使

收稿日期: 2007-03-15

作者简介: 李书国(1969-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为粮油食品科学与品质分析。E-mail: shuguolee@126.com

* 通讯作者: 薛文通(1961-), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品加工技术。E-mail: xwt@mail.cau.edu.cn

用方便等优点,在工业生产及科研的分析工作中广泛应用,近年来国内外对该法在VE的定量分析进行了研究,并认为是替代高液相色谱法的重要方法。McBride等以乙醇和苯为底液,植物油直接溶于底液,利用线性扫描技术分析了植物油中各种生育酚的含量^[4];Shiozaki K等使用玻碳电极,在含有0.5mol/L的高氯酸锂的乙腈电介质溶液中通过伏安法分析了VE的含量^[5];Clough等利用方波伏安技术分析了植物油中生育酚的含量,认为该法优于微分脉冲法或高效液相色谱法,但未涉及分析生育酚不同异构体的可能性^[6];Coatanea M等研究了生育酚在铂微电极上的微分脉冲伏安性质,结果表明在油-有机溶剂的混合底液中,只有一个氧化峰出现,分析了植物油和猪油中的生育酚总量^[7];Jaiswal P V等将多维胶囊溶解于含有表面活性剂的乙醇、乙腈-水的混合氨液中,在碳糊电极上利用微分脉冲技术确定 α -生育酚的含量,其最低检测限为0.6mg/L,回收率达97.5%^[7];Diaz G等研究了 α -、 β -、 γ -、 δ -生育酚在玻碳电极上的微分脉冲伏安性质,结果发现 β -、 γ -生育酚的氧化峰发生重叠,基于PLS化学计量学原理,同时确定了不同植物油样品中 α -、 β -、 γ -、 δ -生育酚的含量^[8]。本实验利用循环伏安技术探讨 α -生育酚的电化学性质,基于其电化学氧化原理,利用微分脉冲伏安技术研究了植物油中VE的定量分析,确定该电化学分析方法的最佳的实验条件。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆油、麦胚油、菜籽油和玉米胚芽油等 市购。

α -生育酚标准品(纯度99%) Merck公司;乙醇、硫酸、1,2-二氯乙烷、高氯酸锂、叔丁基羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、特丁基对苯二酚(THBQ)(均为分析纯)、甲醇(色谱纯) 北京化学试剂公司;硫酸与高氯酸锂溶液用甲醇配制,其他溶液均用二次蒸馏水配制。

1.2 仪器

1.2.1 电化学仪器

M283型恒电位仪(配置M270电化学软件(V4.23)) 美国EG&G仪器公司;三电极系统(包括玻碳电极为工作电极(直径为3mm),铂丝电极为对电极,Ag/AgCl电极为参比电极) 美国CHI仪器公司;电化学池 自制。

1.2.2 高效液相色谱仪

LC-10A型液相色谱仪(日本岛津公司),配置RF-10A波长可变的荧光检测器,SIL-10A自动进样器;固定相为A Nova pak C₁₈(4 μ m particles, 15cm \times 4.6mm),购

自大连中国色谱中心;流动相为甲醇与水(98:2),流速0.8ml/min,进样量3 μ l;荧光检测器:激发波长295nm,HD发射波长325nm;色谱图由岛津C-R7A型记录仪记录。

1.3 方法

1.3.1 玻碳电极的处理

玻碳电极依次用1.0、0.3、0.05 μ m的Al₂O₃粉抛光,用超纯水润湿,接着进行超声清洗处理,再用超纯水和丙酮冲洗除去其表面吸附物质,使成镜面,然后在0.2mol/L的硫酸溶液中用循环伏安法扫描处理,扫描速度为50mV/s,电压范围为-0.5~+1.5V,持续扫描约10min,得到稳定的循环伏安图后,取出用二次蒸馏水洗净,干燥后备用。

1.3.2 标准加入法

α -生育酚标准溶液:准确称取0.4307g α -生育酚标准品加入到100ml的容量瓶,用无水乙醇溶解并稀释到刻度,其浓度为 1.0×10^{-2} mol/L,避光贮存备用;取0.5ml的0.1mol/L的硫酸乙醇溶液和1ml的1.0mol/L的高氯酸锂乙醇溶液以及适量的 α -生育酚的乙醇溶液使其浓度达 2.0×10^{-4} mol/L,加入适量体积的1,2-二氯乙烷到25ml的容量瓶,使其达到25%的比例,最后用乙醇稀释至刻度要求。循环伏安图在0.2~0.8V,20mV/s的扫描速度下记录;微分脉冲伏安图在0.2~0.8V,在10mV/s的扫描速度下记录。在空白样和加入标准 α -生育酚溶液样品中,分别进行三次测量并记录,取其测量的峰电流平均值为 α -生育酚的氧化峰电流值。 α -生育酚的浓度利用 α -生育酚的浓度与其氧化峰电流的校正曲线来确定。

1.3.3 植物油样的处理

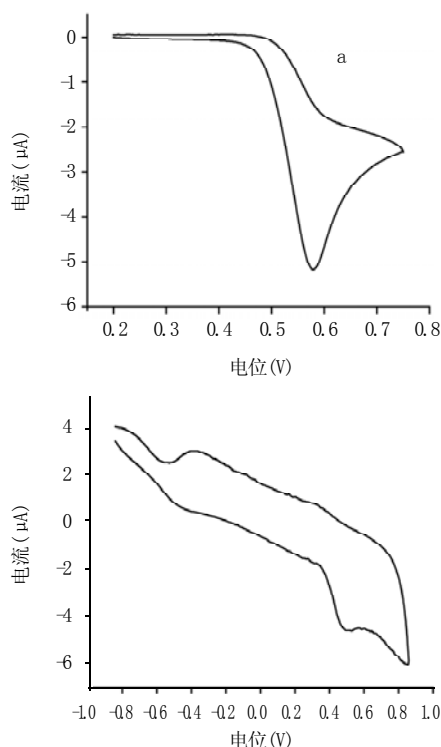
在该方法中,商品植物油样品无需任何预处理。取0.5g的植物油样品置于25ml的容量瓶,随后加入0.40ml的0.1mol/L的乙醇硫酸溶液,1.0ml的1.0mol/L的乙醇高氯酸锂溶液和5ml的1,2-二氯乙烷,然后用乙醇稀释到最终刻度。混合溶液搅拌并用N₂纯化5min。除特别说明,所有实验均在 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 下进行,同时都在氮气氛围下进行。

2 结果与分析

2.1 α -生育酚的伏安性质

如图1所示, α 为 2.0×10^{-4} mol/L的 α -生育酚在1,2-二氯乙烷和乙醇混合溶液(含0.05mol/L的高氯酸锂,pH3.0)的循环伏安图。如图所示,在0.2~0.8V扫描电位范围内,在0.576V处可观察到一个明显的 α -生育酚氧化峰,无还原峰出现,这说明在扫描电位范围内, α -生育酚的电化学行为是不可逆的。为了进一步考查

α -生育酚在玻碳电极上的电化学反应, 本实验在 $-1.0 \sim 0.8$ V 电位范围内, 记录了 α -生育酚的循环伏安图如图1中b所示, 除 0.576 V 处的 α -生育酚的氧化峰外, 在 -0.42 V 和 -0.88 V 处出现两个还原峰, 可能是 α -生育酚的氧化产物及其中间产物在电极上还原而出现的还原峰, 该结果与Zhang T Y的实验结论相似^[9]。不同扫描速度时的循环伏安图表明, α -生育酚的氧化峰电流 I_p 与扫描速度的平方根 $v^{1/2}$ 呈线性关系($I_p=15.92v^{1/2}+0.22$, $r=0.9989$), 这说明 α -生育酚的电化学氧化过程是典型的扩散控制过程, 而且氧化峰电位随着扫描速度的增加而正移。



图a、b分别是同浓度的生育酚在不同扫描电位范围内的循环伏安图。实验条件为: 溶液pH3.0, 0.05mol/L 的 LiClO_4 , 扫描速度为 20mV/s , α -生育酚的浓度为 $2.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 。

图1 α -生育酚在玻碳电极的循环伏安图
Fig.1 Cyclic voltammograms at glass carbon electrode

2.2 植物油中 α -生育酚电分析条件的优化

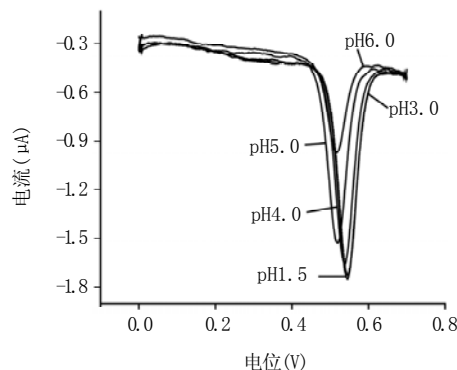
2.2.1 溶剂与支持电解质的选择

电化学分析法测定植物油中的 α -生育酚, 所选溶剂应满足如下要求: 能与植物油样品混合形成均一的混合物; 溶剂应具有良好的介电特性即适宜的介电常数, 能溶解支持电解质以使含油混合物具有良好的导电性。 $1,2$ -二氯乙烷具有好的介电常数($\epsilon=10.5$)和溶解脂类样品的能力^[7], 符合本实验的要求。我们选择 $1,2$ -二氯乙烷和乙醇为溶剂, 硫酸的乙醇溶液用于调整介质的pH值, 高氯酸锂的乙醇溶液用于提高介质的导电性。为

了确定 $1,2$ -二氯乙烷和乙醇的合适比例, 对不同比例的混合物进行了实验, 实验中加入 0.5g 的油脂样品。结果表明, $1,2$ -二氯乙烷比例低于 25% 时, 混合物变浑, 出现絮状物, 影响实验效果, 所以实验中混合溶剂中加入 25% 的 $1,2$ -二氯乙烷。

2.2.2 溶液pH值对 α -生育酚的伏安性质的影响

图2为扫描速度为 10mV/s , 溶液pH值不同时的 α -生育酚的微分脉冲伏安图。由图表明, 在 $0.2 \sim 0.8$ V 电位范围, 得到一个明显的氧化峰, 且氧化峰电位随着pH值的增加而正移, 氧化峰电流随着pH值的降低而增加, 但当pH值低于 3.0 , 峰电流值不再增加, 基本保持恒值。该特性与Galeano D等所得到的结论类似^[3]。根据此结果, 2.0mmol/L 的硫酸浓度(pH3.0)用于进一步的实验研究。



实验条件为: 溶液电解质浓度 0.05mol/L LiClO_4 , 扫描速度 10mV/s , 脉冲幅度 50mV 。

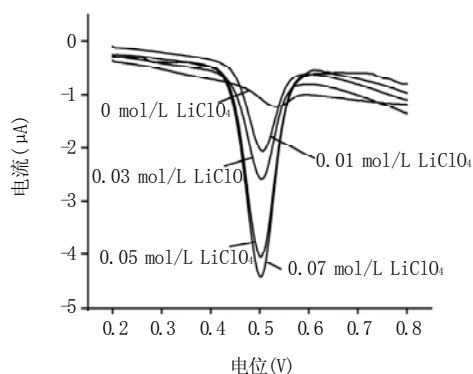
图2 α -生育酚在不同pH值的溶液中的微分脉冲伏安图
Fig.2 DP voltammograms of α -tocopherol at different pH values

2.2.3 溶液电解质浓度对 α -生育酚的伏安性质的影响

为了研究支持电解质浓度对 α -生育酚的伏安性质的影响, 在选定的浓度范围 $0 \sim 0.07\text{mol/L}$ 高氯酸锂溶液进行了微分脉冲伏安试验研究, 结果如图3所示, α -生育酚的氧化峰电流随着支持电解质浓度的增加而增大, 但增加的趋势在浓度大于 0.05mol/L 后减缓, 此外微分脉冲伏安曲线的背景电流降低, 氧化峰电位随着支持电解质浓度的增加略微负移。综合考虑, 选定 0.05mol/L 的高氯酸锂作为最佳支持电解质浓度。

2.2.4 仪器参数对 α -生育酚的伏安性质的影响

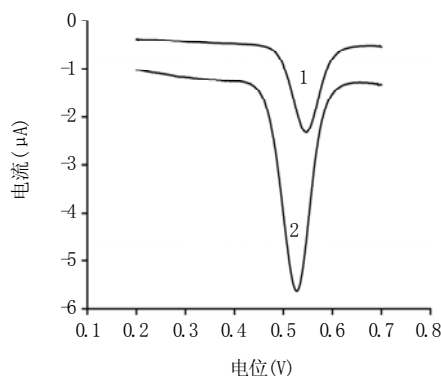
由图4可见, α -生育酚的氧化峰电流随着脉冲幅度的增加而增加, 氧化峰电位略微负移。在扫描速度为 5mV/s , 脉冲幅度为 50mV 时的伏安图峰形比扫描速度为 10mV/s 、脉冲幅度为 25mV 时的要更陡、更尖、更窄, 使其分辨率和灵敏度更高, 所以确定 50mV 作为最佳的脉冲幅度, 对于扫描速度, 综合考虑快速分析



实验条件为: pH 7.0, 扫描速度 10mV/s, 脉冲幅度 50mV。

图3 2.1×10^{-4} mol/L α -生育酚在不同支持电解质浓度的溶液中的微分脉冲伏安图

Fig.3 DP voltammograms of 2.1×10^{-4} mol/L α -tocopherol at different concentration of supporting electrolyte



1. 扫描速度 10mV/s, 脉冲幅度 25mV; 2. 扫描速度 5mV/s, 脉冲幅度 50mV。

图4 在不同电参数时 α -生育酚的微分脉冲伏安图

Fig.4 DP voltammograms of 2.0×10^{-4} mol/L α -tocopherol under different conditions

与灵敏度的要求, 选定 10mV/s 的电位扫描速度应用于进一步的实验研究。

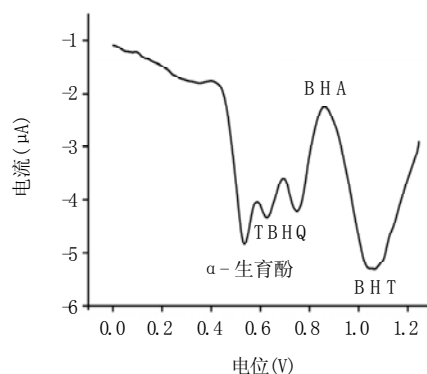
2.3 α -生育酚的伏安响应的稳定性和重现性

α -生育酚在玻碳电极上的伏安响应的稳定性和重现性对其电化学法定量分析非常重要。为了检验其稳定性, 对 1.5×10^{-4} mol/L 的 α -生育酚在玻碳电极的电流响应进行试验, 重复测定 15 次, α -生育酚的氧化峰电流的平均值为 $3.43 \pm 0.12 \mu\text{A}$ ($n=15$, $\text{RSD}=3.5\%$), 所以玻碳电极和所选溶液用于测定 α -生育酚的电化学性质的稳定性和重现性好。

2.4 其他酚类抗氧化剂的干扰及影响

为了检验植物油中加入的其他合成酚类抗氧化剂对 VE 分析检测的影响和可能存在的干扰, 研究了叔丁基羟基茴香醚(BHA)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)和特丁基对苯二酚(TBHQ)共存时 α -生育酚的伏安性质及其检测回

收率。在 α -生育酚、TBHQ、BHA、BHT 共存的混合物的微分脉冲伏安图(图5)所示, 可以观察到四个明显的氧化峰, 在所研究的电解液中没有出现四者氧化峰重叠现象, α -生育酚与 TBHQ、BHA 及 BHT 之间的氧化峰电位差分别为 110、210 和 530mV。为了进一步研究三种合成抗氧化剂对植物油中 VE 的定量分析的影响, 得到的 α -生育酚回收率如表 1 所示, 结果表明在 TBHQ、BHA、BHT 的标准用量范围内, 三者对 α -生育酚的电化学法分析测定没有显著影响。



扫描速度 10mV/s, 脉冲幅度 50mV。

图5 TBHQ、BHA (8.0×10^{-5} mol/L) 和 BHT (1.5×10^{-4} mol/L) 共存时 1.38×10^{-4} mol/L α -生育酚的微分脉冲伏安图

Fig.5 DP voltammogram of 1.38×10^{-4} mol/L α -tocopherol at the presence of BHA, TBHQ (8.0×10^{-5} mol/L) and BHT (1.5×10^{-4} mol/L) at glass carbon electrode

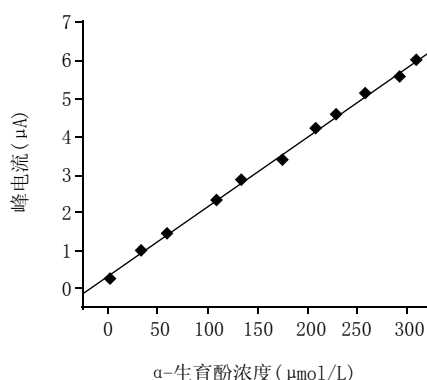
表1 根据标准加入法, 在 TBHQ、BHA、BHT 共存时的 α -生育酚的电化学法分析结果的回收率

Table 1 Recovery results obtained in analysis of α -tocopherol by proposed method in presence of TBHQ, BHA and BHT using DPV with standard addition

混合样品(添加 α -生育酚、 BHA、TBHQ、BHT)	检测结果 (mg/L) ($n=5$, $\bar{X} \pm \text{SD}$)	回收率(%)	RSD(%)
10	9.82 ± 0.23	98.2	2.34
30	29.5 ± 0.76	98.3	3.01
50	50.1 ± 1.8	100.2	3.59
100	102.4 ± 3.9	102.4	3.81
200	206.8 ± 7.3	103.4	3.53

2.5 α -生育酚在玻碳电极的氧化峰电流响应

采用标准加入法配制不同浓度的 α -生育酚溶液样品, 在扫描速度 10mV/s, 脉冲幅度 50mV 记录其微分脉冲伏安图, 每一浓度样品试验重复三次, 记录其氧化峰电流值的平均值。结果表明氧化峰电流与 α -生育酚的浓度在 $5 \sim 350 \mu\text{mol/L}$ 范围内呈线性关系 $I_p = 0.2872 + 0.01852 \times C_{\alpha-T}$, 相关系数 $r=0.9997$, 如图 6 所示, 其线性范围内的检测灵敏度为 $1.852 \times 10^{-8} \text{ A/L/mol}$, 最低检测为 $1.5 \mu\text{mol/L}$ ($S/N=3$), 每个样品分析所需时间 80s。该线性回归方程可用于植物油中 α -生育酚的定量分析。



分析条件如上所述, 每个样品的峰电流记录三次。

图6 微分脉冲伏安图的峰电流与 α -生育酚的浓度的校正曲线
Fig.6 Determination of α -tocopherol by DPV at glass carbon electrode with standard addition method

2.6 电化学分析法在植物油VE定量分析中的应用

表2 电化学法和HPLC法分析植物油样品中维生素的结果比较

Table 2 Analysis of tocopherols in vegetable oils by electrochemical method and HPLC method

油样	电化学法分析结果 (mg/100g, $\bar{X} \pm SD$)	HPLC分析 α -、 β -、 γ -、 δ -生育酚的结果(mg/100g)			
		α	β	γ	δ
大豆油	89.2 \pm 2.5	6.5	1.2	57.8	23.2
玉米油	98.5 \pm 2.7	20.4	1.96	68.2	6.5
小麦胚芽油	525.2 \pm 5.5	253.6	84.2	16.1	169.5
菜籽油	62.5 \pm 2.9	22.8	—	—	38.5
					61.3

本研究利用电化学法分析了大豆油、小麦胚芽油、菜籽油和玉米胚芽油的VE的含量, 为了验证该方法的有效性, 同时利用高效液相色谱(HPLC)法分析同一样品^[10-11]。电化学分析技术无需任何预处理, 准确称取0.5g的植物油样品, 加入到电化学池, 随后加入20ml的如上所述配制的溶液, 按2.5的程序确定VE的含量, 每个油样的分析重复三次, 取其平均值。因为油样中的生育酚的微分脉冲伏安图只有一个氧化峰出现, 所以该法所得的结果是植物油中生育酚的总和, 而未能区分生育酚的各个异构体。电化学法和HPLC法测定的四种植

物油中VE的结果如表2所示, 电化学法分析所得VE(生育酚)含量与HPLC法所测定的 α -、 β -、 γ -和 δ -生育酚之和具有良好的一致性, 这些结果表明电化学分析法测定植物油中的VE是有效的, 检测灵敏度高, 且无需任何样品预处理程序, 分析所需时间短。

参考文献:

- [1] DOELMAN C J. Antioxidant therapy and preventive medicine[M]. New York: Plenum Press, 1989: 9.
- [2] BURTON G W, INGOLD K U. Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function[J]. Accounts of Chemical Research, 1986, 19: 194-201.
- [3] DIAZ T G, MERAS I D, CABANILLAS A G. Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples[J]. Analytica chimica acta, 2004, 511 (22): 231-238.
- [4] MCBRIDE H D, EVANS D H. Rapid voltammetric method for the estimation of tocopherols and antioxidants in oils and fats[J]. Analytical Chemistry, 1973, 45(3): 446-449.
- [5] SHIOZAKI K, FUKUKI K, KITAGAWA T. Electrochemical behavior of tocopherols on microelectrodes in acetic acid medium[J]. Japanese Analysis, 1971(20): 438-441.
- [6] CLOUGH A E. The determination of tocopherols in vegetable oils by square-wave voltammetry[J]. Journal of American Oil Chemistry Society, 1992, 69: 456-460.
- [7] COATANE A M, DARCHEN A, HAUCHARD D. Electroanalysis at ultramicroelectrode of oils and fats Application to the determination of vitamin E[J]. Sensors and Actuators B, 2001, 76: 539-544.
- [8] JAISWAL P V, IJERI V S, SRIVASTAVA A K. Voltammetric behavior of tocopherol and its determination using surfactant + ethanol + water and surfactant + acetonitrile + water mixed solvent systems[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 441: 201-206.
- [9] ZHANG T Y, ZHU S M. On-line electrochemistry-liquid chromatography with UV absorbance detection for elucidating the electrochemical oxidation mechanism of α -tocopherol in methanol[J]. Analytica Chimica Acta, 1995, 309: 111-115.
- [10] 王瑞英, 汤静, 张丽静, 等. 高效液相色谱法测定各种植物油中维生素E含量[J]. 新疆大学学报, 2003(4): 393-396.
- [11] ABIDI S L. Chromatographic analysis of tocopherol-derived lipid antioxidants[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 881: 197-216.