

應用離子配對高效能液相層析方法分析食鹽中 碘離子含量

張俊雄 張美華 曾素香 高雅敏 關麗卿 施養志

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

本研究建立以高效能液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)搭配移動相中含離子配對試劑(ion-pairing reagent)進行分析添加碘化鉀之食鹽中碘含量。食鹽4 g以去離子水溶解並定容至100 mL後即進行分析，層析管柱採用C18 (4.6 mm × 15 cm, 5 μm)，移動相為含1 mM氯化四正丁基銨(tetra-*n*-butylammonium chloride)離子之10 mM磷酸緩衝溶液與甲醇(9:1, v/v)溶液，流速為0.4 mL/min，以光二極體陣列檢出器於波長226 nm分析。以碘化鉀為標準品，配製碘離子濃度標準曲線範圍0.1-4 μg/mL之R²值為0.9997。於食鹽空白檢體中添加碘離子濃度為2.5、25及100 μg/g，進行回收率及重複性(n=5)試驗，試驗結果，添加之回收率介於98.7-100.2%，變異係數介於0.45-1.01%，定量極限為2.5 ppm。本方法應用於檢測市售添加碘化鉀之食鹽，結果與標示(45 ppm之碘化鉀)約7.8%誤差。本方法無需經複雜的前處理，以水溶解後即可利用HPLC進行分析，減少溶劑及試藥之使用，且分析物之滯留時間及層析譜圖亦不受氯離子干擾影響其重複性，適合作為食鹽中碘離子含量之檢測方法。

關鍵詞：食鹽、高效液相層析儀、HPLC、碘化鉀、碘離子、離子對試劑

前言

碘是人體必需的微量礦物質營養素，用於生成甲狀腺素，充足的甲狀腺素才能維護健康的發育與成長。1922年美國的介入性公共衛生研究證實，碘可以防治學童的甲狀腺腫大，確立了碘與甲狀腺腫的關係。許多國家開始以食鹽加碘強化的營養措施來防治碘缺乏引發的「地方性甲狀腺腫」(endemic goiter)，並且成功地降低甲狀腺腫的盛行率。

自1980年代以來，公衛、醫學與營養等國際專家進一步確認，碘缺乏的嚴重後果是阻礙腦神經系統的發育並導致智商(IQ)低落，而神經發展問題的表現不必伴有甲狀腺腫大或呆小

症等明顯的臨床症狀。碘缺乏的傷害在懷孕初期最為嚴重，導致胎兒發育遲滯，尤其會妨礙胎兒的腦部成長和發育，造成智力、聽力與動作技能(psychomotor)等多方面的損傷。世界衛生組織(WHO)、聯合國兒童基金會(UNICEF: United Nations Children's Fund)、國際防治缺碘症理事會(ICCID: The International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders)等國際組織都一致確認，現今世界上，碘缺乏是導致智能不足最普遍，但可預防的單項因素⁽¹⁾。

根據WHO的全球碘缺乏資料庫(Global Database on Iodine Deficiency) 2011年各會員國的尿碘資料，193個會員國中，有32國的人民碘攝取仍然不足，缺碘的學童估計有2.4億，

缺碘的人民估計有18.8億；其中嚴重缺乏的學童約有四千四百多萬，這是智能不足的高危險群⁽²⁾。許多國家的研究證實，與碘充足地區比較，缺碘區域的學童智商大約低落約12-13分，相當於一個標準偏差的幅度。碘營養不僅影響健康，也影響國民的教育學習成果，以及國家的經濟發展和競爭能力⁽³⁾。因此缺碘防治是各國政府重要的公共衛生議題。

先進國家為了防治甲狀腺腫，實施食鹽碘強化已經有悠久的歷史，但近年來這些國家的碘營養監測結果陸續指出，國民的碘營養狀況有低落的趨勢。WHO因此呼籲各國必須永續維護碘營養狀況。本世紀內已有數個國家修訂食鹽加碘策略。

食鹽加碘是國際上公認防治缺碘病(IDD)最有效之策略，加碘所用的碘化合物主要有碘化鉀(KI)與碘酸鉀(KIO₃)兩種，通常一個國家會選用一種，但仍允許進口產品使用不同的碘鹽，自1960年代開始，台灣國產食鹽以碘酸鉀為主要加碘形式，原因之一是其化性較為安定，從歐美國家進口之碘化食鹽，主要添加碘化鉀，若從東南亞進口，則主要添加碘酸鉀。

為了協助各國政府監控與管理食鹽加碘量之變化，國際上可收集到定量食鹽中的碘酸根離子及碘離子濃度的檢驗方法，目前已經建立碘酸根離子之定量方法⁽¹⁾，分析原理是氧化還原滴定法，並且用於檢測市售鹽品之碘含量，而碘離子目前尚無合適的國際間認可方法來檢測，文獻上有使用離子層析儀(IC)⁽⁴⁾進行分析、或者將碘離子氧化成碘酸根離子再以滴定法定量及碘離子經戊酮衍生化後以GC-ECD檢測⁽⁵⁾，但上述分析法經評估以離子層析儀分析碘離子波峰會受食鹽水溶液中主要成分氯離子波峰干擾以及多數方法之前處理稍顯複雜，所以本實驗建立以高效液相層析法(high performance liquid chromatography, HPLC)搭配移動相中含離子配對試劑(ion-pairing reagent)進行分析添加碘化鉀之食鹽中碘離子含量⁽⁶⁾，並進一步檢測市售添加碘化鉀之食鹽。

材料與方法

一、檢體來源

於102年間，至台北地區大賣場購買添加碘化鉀之食鹽，共抽得1件檢體。

二、試藥及器具

磷酸二氫鉀(KH₂PO₄)、氫氧化鉀及氯化四正丁基銨(tetra-*n*-butylammonium chloride)均採用試藥等級，皆選購自Merck (Merck KGaA, Germany)；碘化鉀對照用標準品(≥99%)選購自Merck (Merck KGaA, Germany)；容量瓶、濾膜(0.45 μm, Nylon材質)。

三、儀器設備

本實驗使用高效液相層析儀(L-2200, Hitachi, 日本)，光電二極體陣列偵測器(L-2455, Hitachi, 日本)，去離子水淨化系統(Milli-Q Waters Purification System (Milli-pore Corp, 美國))。

四、試劑調製

(一)0.2 M氫氧化鉀溶液

稱取氫氧化鉀2.24 g，以去離子水溶解使成200 mL。

(二)10 mM磷酸緩衝溶液

稱取磷酸二氫鉀1.36 g及氯化四正丁基銨0.278 g，加去離子水800 mL溶解，以0.2 M氫氧化鉀溶液調整pH值至7，再加去離子水使成1000 mL。

(三)移動相溶液之調製

取10 mM磷酸緩衝溶液與甲醇以9 : 1 (v/v)比例混勻，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

五、標準溶液之配製

取碘化鉀對照用標準品約130 mg，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，其濃度相當於約含碘離子1000 μg/mL，冷藏貯存，供作標準原液。臨用時，取適量標準原液以去離

子水稀釋至0.1-4 $\mu\text{g/mL}$ ，供作標準溶液。

六、檢液之調製

取檢體約4 g，精確稱定，以去離子水溶解並定容至100 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

七、高效液相層析測定條件

光二極體陣列檢出器：波長226 nm

層析管：Halo C18，2.7 μm ，內徑4.6 mm \times 15 cm

層析管柱溫度：30°C

移動相溶液：10 mM磷酸緩衝溶液與甲醇以9:1 (v/v)

移動相流速：0.4 mL/min

八、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各20 μL ，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行液相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收譜圖比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中碘離子之含量(ppm)：

$$\text{檢體中碘離子之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中碘離子之濃度($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

九、市售檢體之分析

以本研究所建立之方法進行市售添加碘化鉀之食鹽分析，共1件，並進行三重覆試驗。據以瞭解本方法之適用性及市售產品中碘離子含量。

結果與討論

一、液相層析之最適分析條件

本研究以C18，2.7 μm ，內徑4.6 mm \times 15 cm層析管柱進行分離，並搭配10 mM磷酸緩衝溶液(pH=7，含1 mM氯化四正丁基銨)及甲醇體積比9:1為移動相，流速為0.4 mL/min，注入量為20 μL ，由圖譜可得碘離子滯留時間約9.7分鐘。碘離子標準曲線之線性回歸決定係數(R^2)為0.9997 (表一)，顯示濃度在0.1-4 $\mu\text{g/mL}$ 之量測範圍內，其線性關係良好。圖一為標準曲線中濃度2 $\mu\text{g/mL}$ 之高效能液相層析圖譜。

二、添加回收與重複試驗

於空白檢體之食鹽添加2.5、25及100 mg/kg，進行回收率及重複性試驗(n=5) (表二)。添加之回收率介於98.7-100.2%，變異係數介於0.45-1.01%，顯示方法回收率良好且重複性佳。評估此方法之定量極限為2.5 ppm。

表二、於空白檢體中添加碘離子之回收試驗

添加於空白檢體之濃度 ($\mu\text{g/g}$)	平均回收率 ^a (%)	CV ^a (%)
2.5	98.7	1.01
25	99.7	0.63
100	100.2	0.45

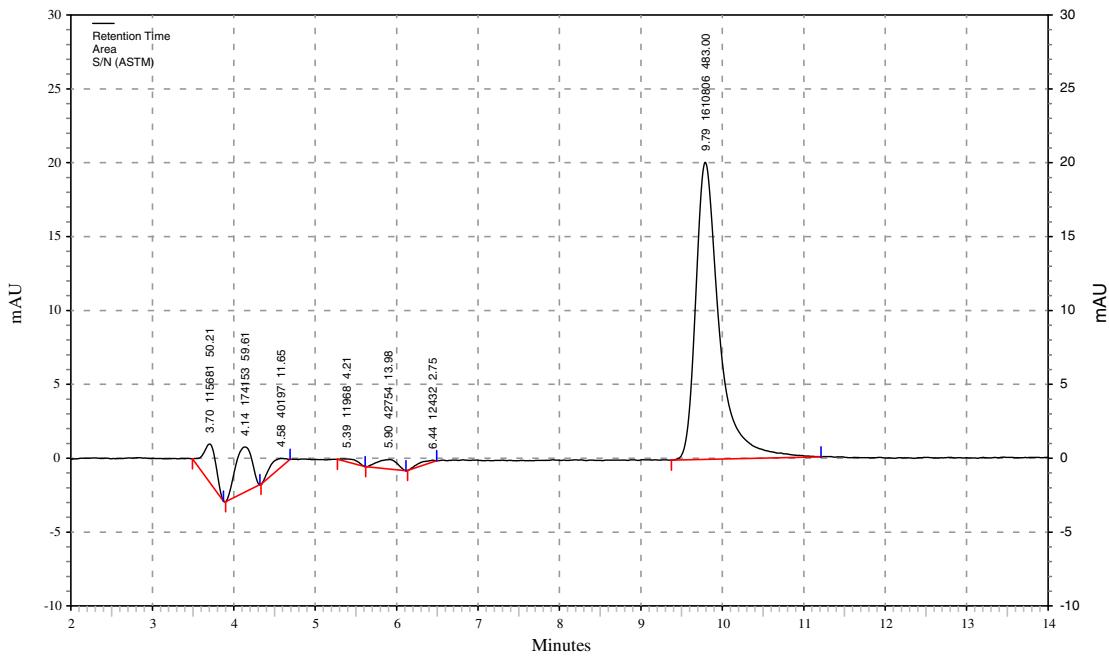
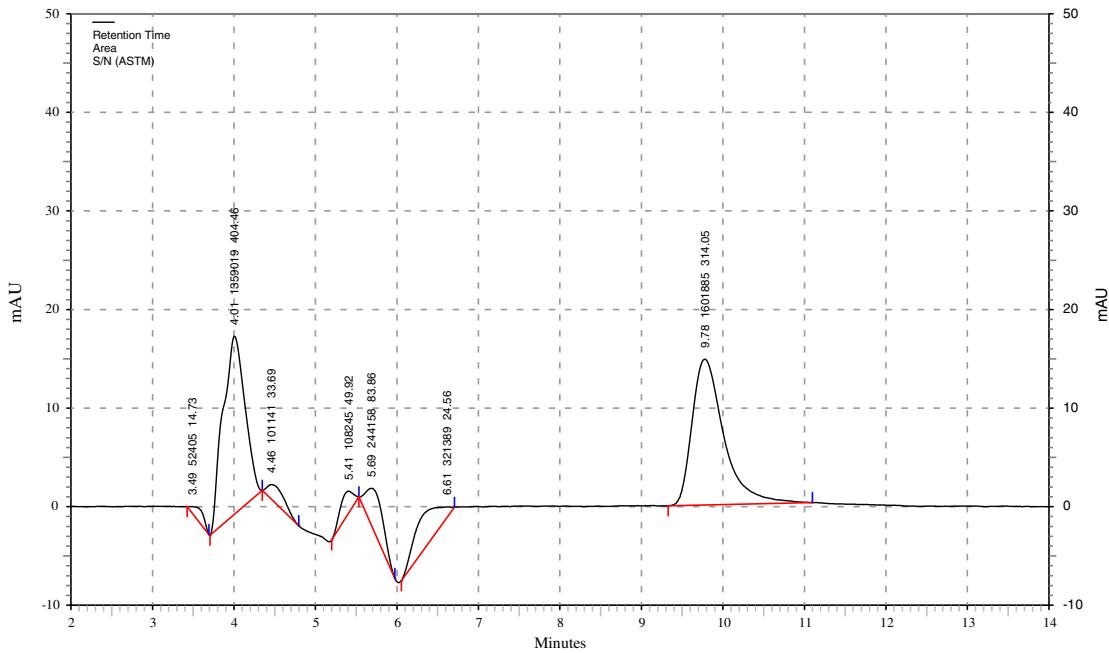
a.各濃度五重複

三、市售檢體中碘離子含量分析

利用此方法應用於分析市售產品中碘離子含量，其層析圖譜如圖二，檢測結果顯示碘離子含量介於37.02-37.29 mg/kg，並換算成碘化鉀濃度(碘化鉀含碘約76.4%)，其碘化鉀平均濃度48.5 mg/kg與市售產品所標示添加45 ppm的碘化鉀約7.8%誤差(表三)。依據本署食品化學檢驗方法之確效規範⁽⁷⁾，本件樣品所含待測物碘化鉀之濃度之濃度範圍介於10-100 ppm，其回收率可介於80-115%。

表一、碘離子標準曲線之線性關係

Compound	Linear range($\mu\text{g/mL}$)	$y=ax+b$	R^2
I ⁻	0.1-4	$y=1.105 \times 10^6 x - 3.79 \times 10^4$	0.9997

圖一、標準曲線中濃度2 $\mu\text{g/mL}$ 之層析圖譜

圖二、食鹽碘離子分析之層析圖譜

表三、市售食鹽之碘離子檢測

商品名稱	平均檢測濃度 ^a ($\mu\text{g/g}$)	與標示之誤差值(%)
HAIN-iodized sea salt	48.5	7.8

a.各濃度三重複

結 論

本實驗以高效能液相層析法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 搭配移動相中含離子配對試劑 (ion-pairing reagent) 進行分析添加碘化鉀之食鹽中碘含量。由高效能液相層析圖譜可知碘離子於此條件下具有較佳的滯留時間及分離效果，不受鹽品中氯離子干擾。添加回收重複試驗也具有良好的回收率及再現性，並評估此方法之定量極限為 2.5 ppm。將此方法應用於檢測國內僅一件市售添加碘化鉀之食鹽，結果與商品標示添加 45 ppm 碘化鉀約 7.8% 誤差。且檢體不需要經過複雜的前處理，以水溶解後即可利用 HPLC 進行分析，總結上述分析結果而言，本分析方法減少了許多溶劑及試藥的使用，且分析物之滯留時間及層析譜圖亦不受氯離子干擾影響其重複性，所以適合作為食鹽中碘離子含量之檢測方法。

參考文獻

1. United Nations Children's Fund, International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders. 2007. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination, in A guide for programme managers. 3rd ed. Geneva: World Health Organization. [http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/iodine_deficiency/9789241595827/en/].
2. Andersson, M., Karumbunathan, V. and Zimmermann, M.B. 2012. Global iodine status in 2011 and trends over the past decade. The Journal of Nutrition 142(4): 744-750.
3. Pandav, C. and Rao, A. 1997. Iodine deficiency disorders in livestock: Ecology and Economics. pp. 1-228. Oxford University Press, UK.
4. Rebary, B., Paul, P., Ghosh, P.K. 2010. Determination of iodide and iodate in edible salt by ion chromatography with integrated amperometric detection. Food Chemistry. 123(2): 529-534.
5. 顧曉梅、王順榮。1995。以酮類為衍生劑氣色譜法測定碘的研究。中國科學院研究生院學報, 12(2): 171-177。
6. Wisnu, C. 2008. Determination of iodine species content in iodized salt and foodstuff during cooking. International Food Research Journal 15(3): 325-330.
7. 食品藥物管理局。2012。檢驗方法集錦。食品化學檢驗方法之確效規範。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=3203>]。

Determination of Iodide Ion Content in Edible Salt by Ion Pair-HPLC

CHUN-HSIUNG CHANG, MEI-HUA CHANG, SU-HSIANG TSENG,
YA-MIN KAO, LIH-CHING CHIUEH AND DANIEL YANG-CHIN SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

This study developed an ion-pair reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method with direct UV detection for the determination of iodide ion content in edible salt. Commercial salt products (4 g) were directly dissolved in 100 mL deionized water prior to analysis. Separation was performed on a C18 (4.6 mm x 15 cm, 5 μ m) column using a mixed water solution containing 1 mM tetra-n-butylammonium chloride, 10 mM phosphate buffer (pH=7) /methanol (9:1, v/v) with a flow rate of 0.4 mL/min. The system was equipped with a photodiode array detector operated at wavelength of 226 nm. The validation of the method showed high coefficient of determination (0.9997) over the concentration range of 0.1-4.0 μ g/mL. The recoveries of iodide in spiked samples ranged from 98.7-100.2% (three levels, n=5) with variation coefficient between 0.45-1.01%. The limit of quantitation (LOQ) was 2.5 ppm. This method offered convenient sample preparation and analysis procedure with reduced solvent usage. Besides, there is no significant interference from chloride ion. Comparing the detected concentration of iodide with the labeled value of an edible salt sample, an average of 7.8% deviation was obtained. The result conform to TFDA's food chemical analysis method validation specification. The developed method is suitable for quantitative determination of iodide ion content in edible salt.

Key words: salt, HPLC, potassium iodide, iodide ion, ion-pairing reagent