

使用 HPLC-ICP-MS 对婴儿配方奶中的碘和溴进行同步形态分析

在 6.5 分钟内测定四种卤素形态



作者

Lawrence Pacquette
Abbott Nutrition,
Columbus, Ohio, USA

Jenny Nelson, Shuofei
Dong, Michiko Yamanaka
安捷伦科技有限公司

前言

婴儿和幼儿在早期发育过程中通常依赖婴儿配方奶来满足其营养需求，因此监管机构对这些产品的安全性和营养价值设定了高标准。大多数国家/地区规定了婴儿配方奶中必需矿物质的最低含量（包括碘），以满足婴儿的营养需求。如果碘摄入过少或过多，婴幼儿就容易发生甲状腺问题^[1,2]。

由牛奶或羊奶蛋白质或蛋白质水解产物制成的婴儿配方奶中碘的监管值与总碘有关（表 1）。但碘的生物利用度取决于存在于样品中的化学形态。碘化物 (I^-) 比碘酸盐 (IO_3^-) 的生物利用度更高，这一现象会影响食品中碘的营养状态。如需了解关于食品毒性和健康功效的更多信息，就要从碘 (I_2) 和碘有机形态中分离出碘化物和碘酸盐的元素形态。

溴的毒性取决于其形态。溴化物 (Br^-) 毒性低于溴酸盐 (BrO_3^-)，后者可能对人类有致癌作用^[3]。

表 1. 婴儿配方奶中碘的监管浓度

监管机构	最低浓度 $\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$	最高浓度 $\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$	参考文献
US FDA	5	75	[4]
欧盟	15	29	[5]
中国	10.5	58.6	[6]

本研究将 HPLC 与串联四极杆 ICP-MS (ICP-MS/MS) 联用测定四种市售婴儿配方奶中的四种形态：碘化物 (I^-)、碘酸盐 (IO_3^-)、溴化物 (Br^-) 和溴酸盐 (BrO_3^-)。HPLC-ICP-MS 方法是一种成熟的分析技术，已应用于各种食品基质（包括婴儿配方奶）中碘的形态分析^[7, 8]。本应用也可以使用单四极杆 ICP-MS（例如 Agilent 7800 或 7900 ICP-MS）作为元素检测器。

实验部分

试剂和标样

由 1000 ppm 储备液配制溴化物、溴酸盐、碘化物和碘酸盐标样。溴离子标准溶液购自东京 Kanto Chemical Co., Inc.。将 NaBrO_3 (Wako Pure Chemical Corporation, Osaka) 溶于水中，制得 1000 ppm 溴酸盐储备液。将 KI 和 KIO_3 (Wako Pure Chemical Corporation, Osaka) 分别溶解，制得 1000 ppm 碘化物和碘酸盐储备液。

标准参比物质和样品

采用标准参比物质 (SRM) NIST 1849a - 婴儿/成人营养配方奶 I (Gaithersburg, MD, USA) 验证测定总碘的分析方法。

四种市售婴儿配方奶中的两种购自美国加利福尼亚州伯克利，另外两种购自中国北京。所有四个样品均为粉末形态。

硝酸 (HNO_3 , $\geq 65\%$, Sigma-Aldrich) 用于微波消解和标样/样品前处理。所有稀释均用 18.2 M Ω -cm (Millipore, Bedford, MA, USA) 去离子水 (DIW)。

样品前处理

对于总溴测定，对约 0.2 g NIST 1849a 和每个样品进行称重，并按照表 2 中概述的程序通过微波消解 (Mars 6, CEM) 在 5 mL HNO_3 中消解。然后用 DIW 将完全消解的样品稀释至 40 mL。所有样品和 SRM 平行配制三份。

表 2. 微波消解程序

阶段	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	程序升温时间 (min)	保持时间 (min)
1	30	5	30
2	210	20	30
3	30	30	-

对于 I 与 Br 形态和总碘测定，称量每种样品 0.2 g 左右于 20 mL DIW 中，然后置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 1 小时。然后使用针头过滤器 (0.45 μm 孔径) 过滤样品。将约 1 mL 过滤后的溶液置于 1 mL 聚丙烯 HPLC 样品瓶 (安捷伦部件号 5182-0567) 中，等待分析。

仪器

使用安捷伦液相色谱连接工具包 (部件号 G1833-65200) 将包含四元泵的 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统与 Agilent 8900 串联四极杆 ICP-MS (ICP-MS/MS) 联用。用于饮用水的安捷伦铬形态分析色谱柱 (部件号 G3268-80001) 阴离子交换色谱柱 (4.6 mm 内径 \times 30 mm 聚羟基甲基丙烯酸酯基体树脂) 用于分离不同碘和溴形态。运行条件和流动相的详细信息如表 3 所示。

Agilent 8900 ICP-MS/MS (高级应用配置, #100) 配有标准样品引入系统, 包括玻璃同心雾化器、石英双通道雾化室、2.5 mm 中心管石英炬管和 Ni 接口锥。ICP-MS/MS 使用氦气作为反应池气体, 在单四极杆 (SQ) 模式下运行, 因此也可以使用 Agilent 7800 或 7900 ICP-MS 进行此应用。

表 3. HPLC 和 ICP-MS/MS 仪器运行条件

HPLC 参数	设置
流动相	5.0 mmol/L NaH ₂ PO ₄ /15.0 mmol/L Na ₂ SO ₄ /5.0 mmol/L EDTA (pH 7.0)
色谱柱	安捷伦 Cr 形态分析色谱柱 (部件号 G3268-80001)
流动相流速 (mL/min)	1.0
进样量 (μL)	100
温度	室温
分析时间 (min)	8
ICP-MS/MS 参数	设置
扫描模式	单四极杆模式
采样深度 (mm)	8.0
雾化器气体流速 (L/min)	1.10
雾化室温度 (°C)	2
提取电压 1 (V)	0.0
提取电压 2 (V)	-250
八极杆偏置电压 (V)	-20.0
氦池气体流速 (mL/min)	2.0
轴向加速 (V)	1.0
动能歧视电压 (V)	3.0
质量数 (m/z)	Br 为 79, I 为 127
积分时间 (s/质量数)	0.5

结果与讨论

校准

通过分析 0–100 ppb 的碘化物、碘酸盐、溴化物和溴酸盐溶液进行校准。图 1 显示校准曲线在校准范围内具有出色线性，校准线性等于或优于 0.9999。

5 ppb 碘和溴标样的色谱图如图 2 所示。在同一次分析中，IO₃⁻、I⁻、BrO₃⁻ 和 Br⁻ 所有四种形态在 6.5 分钟内即可实现基线分离。

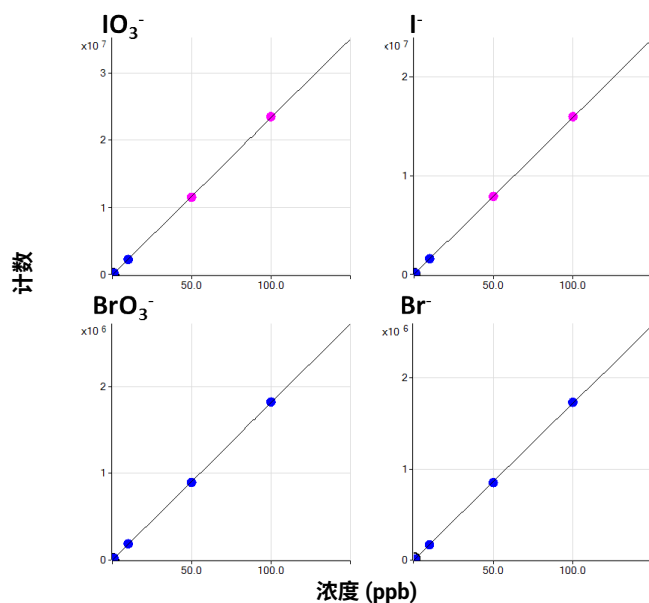


图 1. 校准曲线: IO₃⁻ (左上)、I⁻ (右上)、BrO₃⁻ (左下)、Br⁻ (右下)

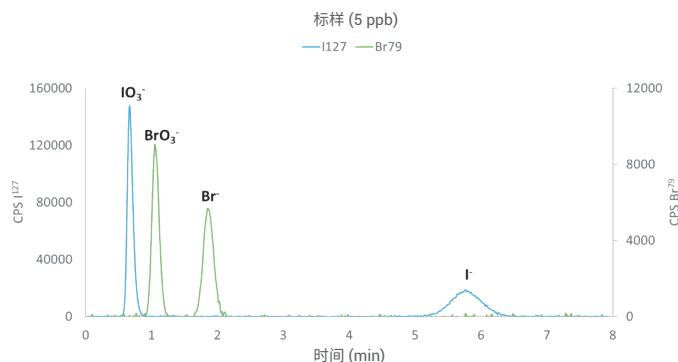


图 2. 同一次分析中 IO₃⁻、I⁻、BrO₃⁻ 和 Br⁻ 的 5 ppb 标样色谱图

检测限

由背景噪音 3 倍除以每个目标峰信号，计算得出信噪比 (S/N) 检测限 (DL)。如表 4 所示，四种形态的 DL 均处于 0.072–0.667 ppb 范围内。

表 4. 溴化物、溴酸盐、碘化物和碘酸盐的 S/N 和 DL

形态	标准浓度 (ppb)	信号	噪音	S/N	溶液中的 DL (ppb)
IO ₃ ⁻	0.98	27781	676.6	41.06	0.072
BrO ₃ ⁻	1.07	1979	320.2	6.18	0.519
Br ⁻	0.9	1296	320.0	4.05	0.667
I ⁻	0.78	3379	677.2	4.99	0.469

SRM 分析

使用 LC-ICP-MS/MS 测定婴儿/成人营养配方奶 SRM 中的四种形态（七次平行样品前处理，三次重复分析；n = 21）。使用 8900 ICP-MS/MS 测量总碘浓度（不经过 HPLC 分离）。表 5 中列出四种形态、总碘和总溴结果。SRM 中未检出碘酸盐或溴酸盐。¹²⁷I⁻ 和总碘的实测浓度以及总碘的认证浓度非常一致，表明方法准确度较高。SRM 中的溴未经过认证。

表 5. NIST 1849a 婴儿/成人营养配方奶 SRM* 的分析结果，n = 21
单位：mg/kg

¹²⁷ IO ₃ ⁻	¹²⁷ I ⁻	⁷⁹ BrO ₃ ⁻	⁷⁹ Br ⁻	总 I*		总 Br**
实测值				标准值	实测值	实测值
ND	1.31 ± 0.04	ND	0.74 ± 0.12	1.29 ± 0.11	1.33 ± 0.37 (103%)	0.77 ± 0.07 (96%)***

ND = 未检出。* 采用水浴提取配制
** 未给出溴标准值。*** ⁷⁹Br/总溴

婴儿配方奶产品的定量分析

四种婴儿配方奶粉样品的提取液平行配制两份，并用 LC-ICP-MS/MS 重复分析两次 (n = 4)。如表 6 所示，任何样品中均未检出碘酸盐或溴酸盐。碘化物相比总碘结果的回收率范围为 87%–102%，表明样品中存在的碘为碘化物形态。溴化物相比总溴结果的回收率范围为 85%–100%，表明样品中存在的溴为溴化物形态。

四种婴儿配方奶样品中的实测总碘范围为 1232–2592 μg/kg，相当于 25.9–54.5 μg/100 kcal。上述浓度符合美国和中国的总碘标准；但有些结果超出了 29 μg/100 kcal 的欧盟碘最高限量。

表 6. 婴儿配方奶样品分析结果。单位：μg/kg。百分比为碘化物和溴化物分别相对总碘和总溴的回收率

样品编号	¹²⁷ IO ₃ ⁻	¹²⁷ I ⁻	⁷⁹ BrO ₃ ⁻	⁷⁹ Br ⁻	总 I*	总 Br**
1-美国	ND	1157 ± 11	ND	2993 ± 27	1333 ± 16 (87%)	3112 ± 151 (96%)
2-美国	ND	1455 ± 29	ND	10826 ± 141	1426 ± 50 (102%)	10815 ± 478 (100%)
3-中国	ND	1240 ± 15	ND	25660 ± 230	1232 ± 23 (101%)	29850 ± 2392 (86%)
4-中国	ND	2372 ± 24	ND	8529 ± 64	2592 ± 44 (92%)	9997 ± 389 (85%)

* 用水提取法进行样品前处理
** 用微波消解法进行样品前处理

加标回收率测试

在提取前，向两种婴儿配方奶样品中加入 20 和 40 ppb IO₃⁻、BrO₃⁻、Br⁻ 和 I⁻，以进行加标回收率测试。每种加标样品平行配制三份，并分析两次。在多次 100 μL 进样过程中，实际样品中的四种形态在 20 ppb 和 40 ppb 浓度下均获得了良好的回收率（表 7）。结果表明，该方法可用于准确测定婴儿配方奶中的四种卤素形态。

表 7. 加标浓度为 20 和 40 ppb 的两种婴儿配方奶样品中 IO₃⁻、BrO₃⁻、Br⁻ 和 I⁻ 的平均加标回收率结果，n = 12

	¹²⁷ IO ₃ ⁻	⁷⁹ BrO ₃ ⁻	¹²⁷ I ⁻	⁷⁹ Br ⁻
平均回收率，%	96 ± 4	97 ± 5	98 ± 7	100 ± 5
回收率范围，%	90–100	89–101	88–104	94–105

图 3 为根据表 7 分析的两种婴儿配方奶中 ^{79}Br 和 ^{127}I 的叠加色谱图。以两个浓度（约 20 和 40 ppb）对购自美国和中国的婴儿配方奶进行加标，每种浓度平行配制三份。色谱图显示多次 100 μL 进样获得良好重现性。

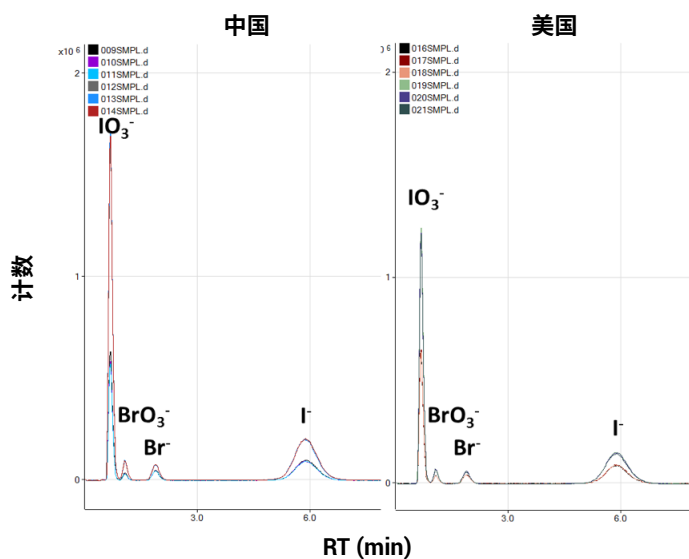


图 3. 美国婴儿配方奶（右侧色谱图）和中国婴儿配方奶（左侧色谱图）在两个加标浓度（约 20 和 40 ppb）下的 ^{79}Br 和 ^{127}I 的叠加色谱图。每幅色谱图 $n = 6$

结论

将 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统与 Agilent 8900 ICP-MS/MS 联用，首次测定了婴儿配方奶样品中的 4 种卤素形态。使用阴离子交换色谱柱可在约 6.5 分钟内实现基线分离， I^- 、 IO_3^- 、 Br^- 和 BrO_3^- 的检测限均小于等于 0.67 ppb。

婴儿配方奶的形态分析提供了关于碘生物有效性和溴酸盐潜在风险的有用信息。此外，还采用 8900 ICP-MS/MS 进行了碘和溴的总元素测定。婴儿配方奶 SRM 中碘的实测值与标准值非常一致，回收率为 103%。 $^{127}\text{I}^-$ 的实测浓度与标准值之间也具有很好的一致性，回收率为 101%。溴 SRM 未提供标准值。

本研究中分析的四种市售婴儿配方奶样品中未检出碘酸盐或溴酸盐，仅含有碘化物和溴化物。样品中的总碘含量范围为 25.9–54.5 $\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$ 。该范围符合美国和中国婴儿配方奶中的碘标准，但超出了 29 $\mu\text{g}/100 \text{ kcal}$ 的欧盟最高限量。

为测试该方法对准确测定婴儿配方奶样品中四种低浓度形态的适用性，在 20 和 40 ppb 下进行了加标回收率测试。结果实现了基线分离，在多次 100 μL 进样过程中表现出良好的重现性。

参考文献

1. A. Milanesi, and G. A. Brent, Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals, J.F. Collins (Ed.), 2017, Elsevier, London, UK, 143–150
2. P. Ghirri, S. Lunardi, A. Boldrini, Iodine Supplementation in the Newborn, *Nutrients*, **2014**, 6(1), 382–390
3. World Health Organization, International Agency of Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/07/ClassificationsAlphaOrder.pdf> (2019 年 2 月访问)
4. CFR Chapter I: Food and Drug Administration, in Title 21: Food and Drugs, Ch. 1, Part 107, Infant Formula, Code of Federal Regulations, U.S. Food and Drug Administration, Silver Spring, MD
5. Commission Delegated Regulation No. 2016/127/EU (2015) Off. J. Eur. Union L25, 1–29
6. GB 10765-2010: 婴儿配方食品国家食品安全标准, 中华人民共和国卫生部, 中国北京
7. Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Quantitation of Arsenic Species in Selected Foods and Beverages, *AOAC Int*, **2015**, Gaithersburg, MD, Method 2015.006
8. B. P. Jackson, V. F. Taylor, T. Punshon, K. L. Cottingham, Arsenic concentration and speciation in infant formulas and first foods, *Pure Appl. Chem.*, **2012**, 84, 215–223

更多信息

关于本研究的完整记述，请参见：Jennifer Nelson, Lawrence Pacquette, Shuofei Dong and Michiko Yamanaka, Simultaneous Analysis of Iodine and Bromine Species in Infant Formula using HPLC-ICP-MS, *JAOAC Int.*, 102, **2019**, DOI: 10.5740/jaoacint.18-0352

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019
2019年4月2日，中国出版
5994-0843ZHCN

