Archive of SID

مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی هشتم، شماره‌ی ۴، صفحه‌های ۳۶۳ ـ ۳۵۷ (زمستان ۱۳۸۵)

مقاله‌ی پژوهشی

سنجش میزان ید در شیر به روش هضم اسیدی و خوانش میکروپلیتی

دکتر مهدی هدایتی، دکتر آرش اردوخانی، مریم السادات دانشپور، دکتر فریدون عزیزی

مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهیدبهشتی
نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، صندوق پستی ۴۷۶۳-۱۹۳۹۵، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم،
دکتر مهدی هدایتی e-mail:hedayati@erc.ac.ir

چکیده

مقدمه: هضم در شرایط خشن حرارتی، زمان طولانی و غیر ایمن بودن محلول‌های قلیایی از مشکلات روش‌های موجود اندازه‌گیری ید در شیر محسوب می‌شوند. در این مطالعه اندازه‌گیری ید در شیر به روش ساده‌ی رنگ‌سنجی سینتتیکی کاتالیزوری با هضم اسیدی ملایم و خوانش سریع میکروپلیتی مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** مرحله‌ی هضم بر روی ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های شیر در محیط اسیدی حاوی متا وانادات/ اسید پرکلریک، دمای ۲۳۰ درجه و به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. پس از هضم، میزان ید در شیر بر اساس واکنش معروف سندل ـ کالتف اندازه‌گیری شد. خوانش نتیجه‌ی واکنش در میکروپلیت ۹۶ چاهکی توسط دستگاه خوانشگر الایزا انجام شد. **یافته‌ها:** محدوده‌ی عملکرد این روش **µg/dL ۴۰-۲** به دست آمد. درصد ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب بین ۶/۷ تا ۹/۳ و ۸/۶ تا ۱۲/۳ محاسبه شد. نتایج حاصل از ۷۰ نمونه در این روش با روش رایج هضم قلیایی همبستگی خوبی داشت (**$y=0/952X-0/084$** ؛ **$r^2=0/907$** ؛ **$n=70$**؛ **$p<0/000$**). در ارزیابی صحت، درصد بازیافت از ۹۱/۳ تا ۱۱۳ به دست آمد. حساسیت روش **µg/dL** ۰/۱ محاسبه شد. **نتیجه‌گیری:** روش هضم اسیدی خوانش میکروپلیتی، علاوه بر افزایش سرعت اندازه‌گیری و درجه‌ی ایمنی واکنش، از کارایی، دقت و صحت کافی برای سنجش میزان ید در شیر برخوردار است.

واژگان کلیدی: هضم اسیدی، ید در شیر، خوانش میکروپلیتی
دریافت مقاله: ۸۵/۷/۱۶ ـ دریافت اصلاحیه: ۸۵/۹/۵ ـ پذیرش مقاله: ۸۵/۹/۱۵

مقدمه

ید عنصری ضروری برای ساخت هورمون‌های تیروئیدی محسوب می‌شود. کمبود ید سبب کمبود هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. این امر باعث اختلال در تکامل جسمی و ذهنی در کودکان و گواتر در بزرگسالان می‌گردد. خوشبختانه کمبود ید نه تنها قابل پیشگیری‌ترین علت عقب افتادگی ذهنی محسوب می‌شود، بلکه برطرف نمودن آن نیز از لحاظ فن‌آوری ساده می‌باشد.[۱] کشور ایران ابتدا جزو مناطق دچار کمبود ید و دارای گواتر آندمیک بود. طی مبارزه به کمک نمک‌های یددار، پایش ید از طریق سنجش ید ادراری لازم بود.[۲] پایش‌های مختلف در مناطقی مانند استان خوزستان،[۳] آهار تهران،[۴] استان سمنان،[۵] روستاهای مهم اطراف تهران،[۶] استان اردبیل[۷] و کلاً ۲۹ استان کشور،[۸] همگی در کودکان ۷ تا ۱۰ ساله انجام شده است. در حالی که نیاز تکامل عصبی نوزادان به هورمون‌های تیروئیدی، سبب شده است که آسیب‌های ناشی از کمبود ید در نوزادان شدیدتر باشد. از طرفی منبع اصلی دریافت ید در نوزادان شیر است، لذا سنجش میزان ید شیر ضروری به نظر می‌رسد. گزارش‌های زیادی در خصوص روش‌های اندازه‌گیری ید وجود دارد اما از زمان ارائه‌ی گزارش واکنش سندل ـ کالتوف،[i] این واکنش مبنای سنجش اغلب روش‌های گزارش شده است.[۹] خاکستر سازی نمونه در محیط قلیایی

i - Sandell-Kolthoff

www.SID.ir

Archive of SID

قدیمی‌ترین روش اندازه‌گیری ید به حساب می‌آید.[۱۰] تاکنون از روش‌های کروماتوگرافی تبادل یونی،[۱۱] فعال‌سازی سریع نوترونی،[۱۲] الکترودهای یون گزین،[۱۳] فلورسانس اشعه‌ی ایکس،[۱۴] کروماتوگرافی گاز- مایع،[۱۵] طیف‌سنجی جرمی،[۱۶] فعال‌سازی رادیو اکتیوی،[۱۷] پلاروگرافی ضربانی تمایزی،[۱۸] اسپکتروفوتومتری،[۱۹] کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا،[۲۰] کمپلکس و متری رنگ‌سنجی،[۲۱] جذب اتمی غیر مستقیم،[۲۲] رقیق‌سازی پلاسما، جفت شده با طیف سنجی جرمی،[۲۳] کمپلکسومتری فلورسانس،[۲۴] برای این منظور استفاده شده است اما همان‌طور که گفته شد، مناسب‌ترین روش برای اندازه‌گیری ید، روش اسپکتروفوتومتری بر اساس واکنش سندل ـ کالتف است. در واکنش مذکور یون سریک زرد رنگ(Ce^{+4}) در مجاورت یدید به یون سه ظرفیتی (Ce^{+3}) بی رنگ تبدیل و ید به دست آمده توسط یون ارسنات مجدداً احیا می‌شود. به این ترتیب ید موجود در نمونه به عنوان کاتالیزور عمل کرده و مقدار بسیار کمی از آن می‌تواند واکنش مذکور را به دفعات انجام دهد.

$$2Ce^{+4}\ (yellow) + 2I^- \rightarrow 2Ce^{+3}(colorless) + I^2$$
$$I^2 + As^{3+} \rightarrow 2I^- + As^{+5}$$

ید در مواد غذایی اغلب به صورت کووالان به ترکیبات مختلف متصل است، برخی مواد تداخل کننده نیز در نمونه‌های بیولوژیک وجود دارند، هم‌چنین چربی بالای شیر و تداخل کدورت آن در روش‌های رنگ سنجی، نشان‌دهنده‌ی نقش حیاتی مرحله‌ی هضم در سنجش میزان ید در نمونه‌های چرب مانند شیر می‌باشد. در همه‌ی روش‌های گزارش شده برای آماده‌سازی نمونه از هضم در محیط قلیایی یا خاکستر سازی در حرارت بالا استفاده شده است. از آنجایی که هضم در محیط‌های اسیدی از خطر بالقوه کمتری در مقایسه با محیط‌های قلیایی برخوردار است، هدف از این مطالعه طراحی و بهینه سازی هضم اسیدی در شرایط ملایم و اندازه‌گیری ساده و سریع ید در نمونه‌ی شیر است. خوانش نتیجه‌ی اندازه‌گیری در میکروپلیت توسط دستگاه خوانشگر الایزا به منظور کاهش زمان سنجش، هدف دیگر این مطالعه محسوب می‌شود.

مواد و روش‌ها

دستگاه‌ها و تجهیزات: دستگاه حرارت دهنده‌ی لوله‌ایی (شرکت ا بی‌سی، آلمان)، اسپکتروفوتومتر(سکومام، فرانسه)، ترازوی آنالیتیک (سارتریوس، آلمان)، دستگاه خوانشگر پلیت ۹۶ چاهکی الایزا (سان رایز، تکن آ ۵۰۸۲، اتریش) و پیپت چند شاخه (فاین پیپت، کمپانی لب سیستم) برای انجام این پژوهش مورد استفاده شد.

مواد شیمیایی: همه‌ی مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه‌ی خلوص بالا شامل متاوانادات‌آمونیم، یدات‌پتاسیم، تری اکسید آرسنیک، کلرات‌پتاسیم، اسیدپرکلریک ۷۲٪، سریم‌سولفات تتراآمونیم، کلرید سدیم و اسیدسولفوریک، از شرکت سیگما آلدریچ آلمان تهیه شد. آب مقطر دوبار تقطیر با دستگاه آب مقطرگیری شیشه‌ای با رسانایی کمتر از ۰/۰۱ میکروزیمنس تهیه شد.

معرف هضم اسیدی: معرف هضم کننده‌ی اسیدی با افزودن ۰/۵ گرم متاوانادات‌آمونیم، هم‌زدن مداوم و انحلال در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۷۲٪ تهیه شد.

محلول اسید آرسنیک: برای تهیه محلول اسید آرسنیک، ۱/۸ گرم کلرید سدیم و ۹ گرم تری‌اکسید آرسنیک در ۸۳ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ حل شد و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد.

محلول سولفات‌آمونیم‌سریک: این محلول با انحلال ۶ گرم سولفات آمونیم سریک در ۷۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۷۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ تهیه شد.

کالیبراتورهای ید: ابتدا با انحلال ۱/۶۸۶ گرم یدات پتاسیم در یک لیتر آب مقطر، محلول غلیظ ۱۰۰۰ µg/mL کالیبراتور ید تهیه شد و سپس محلول‌های کالیبراتور با غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ µg/dL از آن تهیه شد.

نمونه‌ی مورد بررسی: ۷۰ نمونه‌ی شیر مورد نیاز به حجم ۲ میلی‌لیتر، از مادران داوطلبی که برای بررسی میزان TSH نوزادشان به مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی مراجعه کرده بودند و هم‌چنین مادران داوطلب بستری در بخش زنان بیمارستان آیت‌الله طالقانی اخذ شد.

بهینه‌سازی شرایط هضم اسیدی: شرایط بهینه (زمان، دما و غلظت متاوانادات) بر اساس آزمون بازیافت در چهار نمونه به روش مشروح ذیل تعیین شد.

به منظور هضم، نمونه‌ها پس از افزایش ۵۰ میکرولیتر نمونه یا کالیبراتور به ۲ میلی‌لیتر از معرف هضم کننده، ۱۰ دقیقه در دمای ۲۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه شد. نمونه‌ها سپس در زیر هود مجهز به تله پرکلریک تا رسیدن به دمای اتاق خنک شدند و مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌ی هضم شده به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ چاهکی پلی استیرنی (ساخت

www.SID.ir

Archive of SID

کمپانی نانک، دانمارک) انتقال داده شد. در مرحله‌ی بعد به کمک پیپت چند شاخه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر اسیدارسنیک و سپس ۵۰ میکرولیتر محلول سریک به همه‌ی چاهک‌ها افزوده شد. دقیقاً بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، جذب نوری چاهک‌ها توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. با رسم میانگین مقادیر جذب نوری کالیبراتورها روی محور عمودی و غلظت کالیبراتورها روی محور افقی، منحنی استاندارد ترسیم شد.

در هر میکروپلیت استانداردهایی با غلظت ۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکروگرم در دسی‌لیتر استفاده شد. با رسم لگاریتم میانگین جذب نوری استانداردها روی محور عمودی و غلظت استانداردها روی محور افقی، منحنی استاندارد رسم شد. غلظت ید در نمونه‌های شیر با رگرسیون خطی منحنی فوق محاسبه گردید. آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه به عنوان استاندارد صفر در نظر گرفته شد.

غلظت مربوط به میانگین سیگنال استاندارد صفر با ۱۰ بار تکرار به علاوه دو برابر انحراف استاندارد آن، مبنای تعیین حد تشخیص روش قرار گرفت. از رقیق‌سازی متوالی یک نمونه‌ی شیر هضم شده نیز برای تأیید بهره گرفته شد. آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه برای رقیق‌سازی استفاده شد.

به منظور ارزیابی دقت روش از آزمون‌های درون سنجش و برون سنجش نمونه‌هایی با غلظت پایین، متوسط و بالا در ۸ تکرار درون آزمونی و ۱۲ تکرار برون آزمونی استفاده شد.

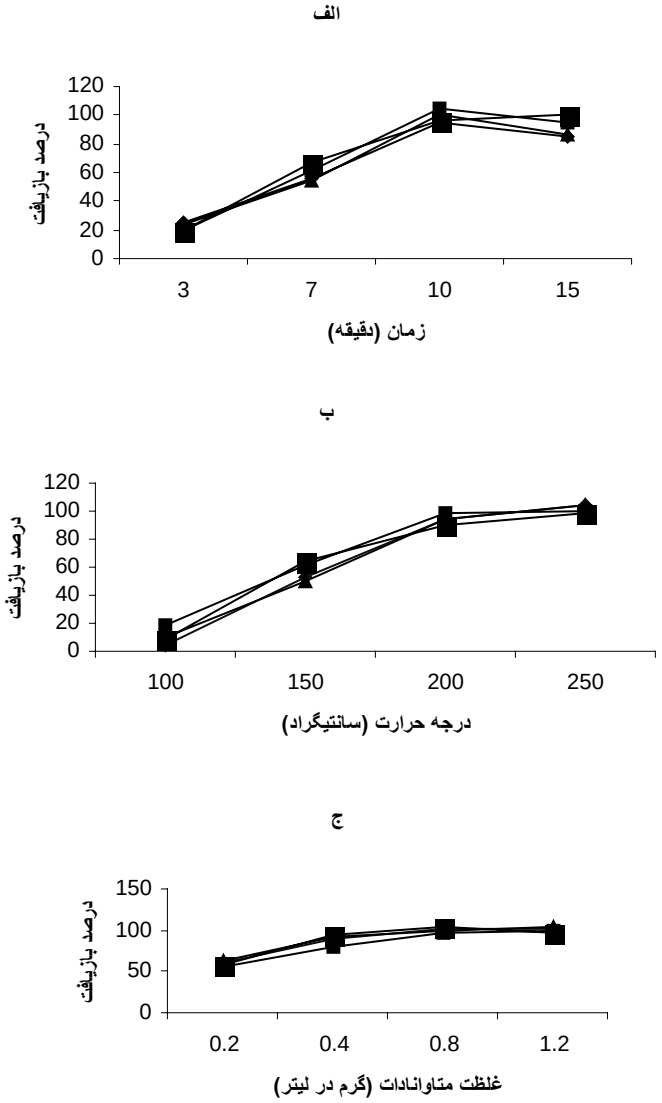
سنجش میزان ید پس از افزایش استانداردهای مختلف به ۶ نمونه‌ی تصادفی با تکرار سه‌تایی مبنای آزمون بازیافت قرار گرفت. افزایش استاندارد صفر به عنوان شاهد استفاده شد.

سنجش میزان ید در ۶ نمونه با غلظت‌های پایین، متوسط و بالا پس از رقیق‌سازی متوالی با تکرار سه‌تایی اساس آزمون توازی قرار گرفت.

نتایج این روش با نتایج روش رایج هضم قلیایی در ۷۰ نمونه بررسی شد. میزان ید نمونه‌های مذکور ۳۸/۵-۵/۱ میکروگرم در دسی‌لیتر بود.

داده‌های کسب شده توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد. متغیرهای کمی به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شدند. از آزمون رگرسیون پیرسون جهت بررسی همبستگی دو روش استفاده شد. همان‌طور که گفته شد، از درصد ضریب تغییرات برای بیان دقت دو روش بهره گرفته شد.

تأثیر ۱۵ میلی مول اسیداسکوربیک، آمونیم‌سولفات‌فرو و تیوسیانات‌پتاسیم به عنوان مداخله‌گرهای رایج بررسی شد. غلظت‌های استاندارد در حضور و غیاب مداخله‌گرهای مذکور مورد بررسی قرار گرفت.



نمودار ۱- شرایط بهینه‌ی زمان (الف) دما (ب) و غلظت متاوانادات (ج) برای هضم اسیدی نمونه‌ی شیر

www.SID.ir

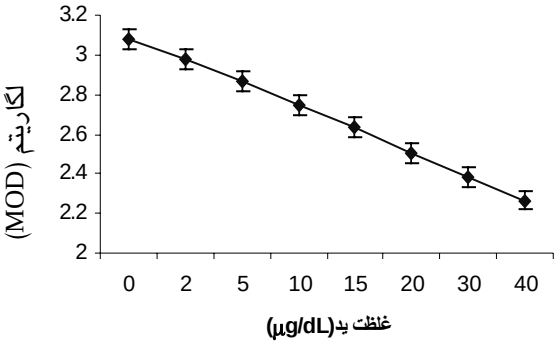
Archive of SID

یافته‌ها

در شرایط مختلف درجه حرارت، زمان و غلظت متاوانادات، بازیافت میزان ید در ۴ نمونه‌ی شیر نشان داد که زمان ۱۰ دقیقه، دمای ۲۳۰ درجه و غلظت ۵٪ متاوانادات‌آمونیم در اسید پرکلریک شرایط بهینه محسوب می‌شوند (نمودار ۱)

رسم منحنی استاندارد با ۸ بار تکرار با لگاریتم میانگین جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر تا غلظت ۴۰ میکروگرم در دسی‌لیتر خطی بود. آنالیز پیرسون ضریب خطی بیشتر از ۰/۹۹۳ را نشان داد (نمودار ۲).

بر اساس غلظت مربوط به میانگین سیگنال استاندارد صفر با ۱۰ بار تکرار به علاوه‌ی دو برابر انحراف استاندارد آن، حد تشخیص ۰/۱ میکروگرم در دسی‌لیتر تعیین شد. در ۶ تکرار ده تایی برای این منظور حد تشخیص از ۰/۰۸۰ تا ۰/۱۲ میکروگرم در دسی‌لیتر حاصل شد.



نمودار ۲- نتایج حاصل از ۸ بار تکرار منحنی استاندارد سنجش ید در شیر به روش هضم اسیدی

درصد ضریب تغییرات درون آزمونی نمونه‌هایی با غلظت پایین، متوسط و بالا ۸/۶، ۶/۷ و ۹/۳ به دست آمد. این ضرایب در خصوص برون آزمون ۹/۸، ۸/۶ و ۱۲/۳ درصد بود (جداول ۱و۲).

جدول ۱- نتایج حاصل از بررسی ضریب تغییرات درون آزمونی سنجش ید در شیر به روش هضم اسیدی

درصد ضریب تغییرات	دفعات تکرار	میانگین µg/dL	انحراف معیار
۸/۶	۸	۳/۵	۰/۳۰۱۰
۶/۷	۸	۱۲/۷	۰/۸۵۰۹
۹/۳	۸	۳۶/۲	۳/۳۶۶۶

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی ضریب تغییرات برون آزمونی سنجش ید در شیر به روش هضم اسیدی

درصد ضریب تغییرات	دفعات تکرار	میانگین µg/dL	انحراف استاندارد
۹/۸	۸	۳/۳	۰/۳۲۳۴
۸/۶	۸	۱۲/۹	۱/۱۰۹۴
۱۲/۳	۸	۳۵/۷	۴/۳۹۱۱

جدول ۳- نتایج حاصل از آزمون بازیافت برای تعیین صحت روش سنجش ید در شیر به روش هضم اسیدی

درصد بازیافت	غلظت نمونه	مورد انتظار	اندازه‌گیری شده	استاندارد µg/dL
۹۳/۳	۴/۲	۶/۲	۵/۶	۲
۹۱/۳	۴/۲	۹/۲	۸/۴	۵
۹۶/۴	۴/۲	۱۴/۲	۱۳/۷	۱۰
۱۰۹	۴/۲	۱۹/۲	۲۱/۱	۱۵
۱۰۷	۴/۲	۲۴/۲	۲۵/۹	۲۰
۱۱۳	۴/۲	۳۴/۲	۳۶/۴	۳۰

www.SID.ir

جدول ۴- نتایج حاصل از آزمون توازی برای تعیین صحت روش سنجش ید در شیر به روش هضم اسیدی

نسبت درصد	اندازه‌گیری µg/dL	انتظار µg/dL	رقت
۱۰۰	۳۸/۸	۳۸/۸	۱
۱۰۵	۲۰/۵	۱۹/۴	۲
۸۸	۸/۶	۹/۷	۴
۸۹	۴/۱	۴/۶	۸
۹۸	۲	۲/۳	۱۶
۸۲	۰/۹	۱/۱	۳۲

همان‌طور که در جدول ۳ آورده شده است، بازیافت ۶ نمونه‌ی مورد بررسی از ۹۱/۳ تا ۱۱۳ درصد به دست آمد.

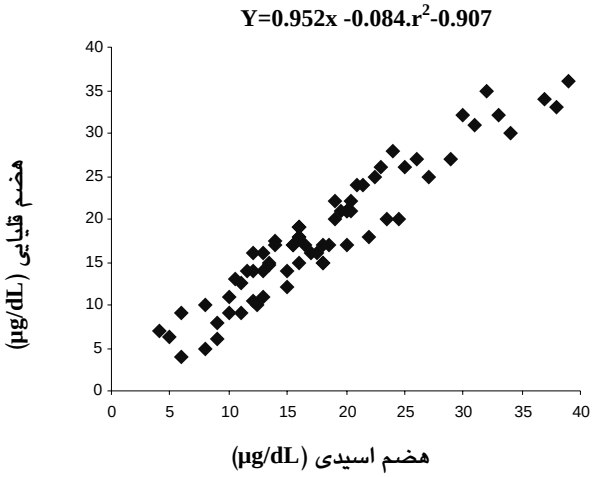
نسبت غلظت اندازه‌گیری شده به غلظت مورد انتظار پس از رقیق‌سازی متوالی تا رقت ۱:۳۲ از ۰/۹ تا ۱/۰۵ به دست آمد(جدول ۴).

آنالیز رگرسیون میان نتایج روش هضم اسیدی این مطالعه با هضم قلیایی به عنوان روش رایج، همبستگی قابل قبولی را نشان داد ($y=۰/۹۵۲ X-۰/۰۸۴$ ؛ $r^2=۰/۹۰۷$ ؛ $n=۷۰$؛ $p<۰/۰۰۰$) (نمودار ۳).

افزایش ۱۵ میلی‌مولاری مواد مداخله‌گر (اسیداسکوربیک، تیوسیانات‌پتاسیم و آمونیم‌سولفات‌فرو) پس از هضم اسیدی، تخریب شده و تأثیری بر میزان ید در مقایسه با محلول‌های شاهد نداشت. البته مواد مذکور بدون مرحله‌ی هضم تغییرات شدیدی در میزان ید ایجاد می‌کنند.

بحث

هورمون‌های تیروئید حاوی عنصر معدنی ید می‌باشند. کمبود ید سبب کمبود هورمون‌های تیروئید و در نتیجه اختلال در تکامل جسمی و ذهنی در کودکان می‌شود. در ماه‌های اول زندگی انواع شیر منبع اصلی دریافت ید در نوزادان محسوب می‌شود، لذا میزان ید در شیر، شاخص مناسبی برای تعیین میزان دریافت ید در نوزادان محسوب می‌گردد.[۱] در اغلب روش‌های سنجش ید در شیر پس از آماده‌سازی نمونه از واکنش معروف سندل ـ کالتف، برای سنجش ید استفاده می‌شود.[۹] روش رایج آماده‌سازی نمونه‌ی شیر، روش هضم قلیایی می‌باشد. در زمان آماده‌سازی، علاوه بر آزادسازی ید از ترکیبات مختلف، مواد تداخل‌کننده و نیز کدورت ناشی از چرب بودن نمونه‌ی شیر بر طرف می‌شود. لازم به ذکر است که هضم در محیط قلیایی در حرارت بالا صورت می‌گیرد.[۲۷] از آنجایی که هضم در محیط‌های اسیدی از خطر بالقوه کمتری در مقایسه با محیطهای قلیایی برخوردار است، هدف از این مطالعه طراحی و بهینه نمودن هضم اسیدی در شرایط ملایم و اندازه‌گیری ساده و سریع ید در نمونه‌ی شیر بود.



نمودار ۳- مقایسه‌ی نتایج روش هضم اسیدی با روش رایج هضم قلیایی سنجش میزان ید در ۷۰ نمونه‌ی شیر

همه‌ی روش‌های سنجش ید در شیر به اجبار در مرحله‌ی اول یعنی آماده‌سازی نمونه، ید موجود در ترکیبات آلی را به شکل معدنی تبدیل کرده و سپس از روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای سنجش آن استفاده می‌نمایند. همان‌طور که گفته شد روش خاکسترسازی اولین روش سنجش ید در شیر محسوب می‌گردد اما حداقل به حرارت ۶۰۰ درجه‌ی سانتیگراد نیاز دارد و اغلب باعث تصعید نمونه و کسب نتایج منفی کاذب می‌شود.[۲۵]

www.SID.ir

Archive of SID

در روش هضم قلیایی اغلب از دمای ۴۲۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه استفاده می‌شود، اما در این مطالعه فقط از ۱۰ دقیقه هضم در دمای ۲۳۰ درجه بهره گرفته شد. در سال ۱۹۹۸ آناریتا و همکاران روش تزریق پیوسته در اسپکتروفوتومتری را برای سنجش ید در شیر گزارش نمودند.[۲۶] محدوده‌ی عملکرد منحنی استاندارد مذکور تا µg/dL ۱۰ بود اما در مطالعه‌ی حاضر منحنی استاندارد قادر به سنجش تا µg/dL ۴۰ بود. در روش آناریتا و همکاران حساسیت µg/dL ۰/۹۹ گزارش شد اما در مطالعه‌ی حاضر µg/dL ۰/۱ به دست آمد. سرعت اندازه‌گیری مطالعه‌ی مذکور ۴۸ نمونه در ساعت تخمین زده شد، در حالی که سنجش ید به روش خوانش میکروپلیتی حداقل ۹۶ نمونه در ساعت قابلیت اندازه‌گیری دارد. این در حالی است که بازیافت روش مورد استفاده در مطالعه‌ی ریتا و همکاران از ۹۴/۵ تا ۱۰۵ درصد تعیین شد که از درصد بازیافت مطاله‌ی حاضر یعنی ۹۱/۳ تا ۱۱۳ بهتر است. در روش هضم اسیدی فیشر[۲۵] با بازیافت ۹۶ تا ۱۰۲ درصد از اسید نیتریک، سولفوریک و پرکلریک استفاده شد، اما مخلوط اسیدی مطالعه‌ی حاضر شامل دو اسید با ایمنی بیشتر، زمان کوتاه‌تر و دمای پایین‌تر از ارجحیت برخوردار است.[۲۵] در مجموع یافته‌های این مطالعه نشان داد که روش هضم اسیدی از کارایی لازم، دقت و صحت کافی برای سنجش میزان ید در شیر برخوردار است. همچنین، این روش با شیوه‌ی خوانش میکروپلیتی سرعت سنجش را تا حدود زیادی افزایش می‌دهد و از همه مهم‌تر شرایط آماده‌سازی نمونه در آن از روش‌های قلیایی ایمن‌تر است و شرایط دمایی ملایم‌تری لازم دارد. عدم بررسی عملکرد این روش در شیر دام (شیر گاو و گوسفند) و شیرهای مصنوعی (انواع شیر خشک) از محدویت‌های این مطالعه بود که در ادامه‌ی پژوهش مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

سپاسگزاری

نویسندگان از مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی که با حمایت مالی و امکانات آزمایشگاهی، انجام این پژوهش را میسر نمودند، قدردانی می‌نمایند.

References

1. Furnee CA. Prevention and control of iodine deficiency: a review of a study on the effectiveness of oral iodized oil in Malawi. Eur J Clin Nutr 1997; 51 Suppl 4: S9-10 .

۲. میرمیران پروین، هدایتی مهدی، شیخ‌الاسلام ربابه ، رحمانی م، عزیزی فریدون. در جستجوی شاخص مطمئنی برای ید رسانی. پژوهش در پزشکی،۱۳۸۰؛ سال ۲۵، شماره۲ ،صفحات ۳ تا ۸.

۳. عزیزی فریدون، میرمیران پروین، شیخ‌الاسلام ربابه، هدایتی مهدی، دلشاد حسین، بهلکه جمشید. پایش شیوع ید ادرار در دانش‌آموزان ۸ تا ۱۰ ساله استان خوزستان در سال ۱۳۷۵. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی اهواز،۱۳۸۱؛ سال ،شماره ۳۵، صفحات ۹ تا ۱۵.

٤. سالارکیا ناهید، هدایتی مهدی، عزیزی فریدون. شاخص‌های کمبود ید شش سال پس از تجویز ید در دانش‌آموزان دختر روستاهای آهار تهران سال ۱۳۷۸. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی زنجان،۱۳۸۱؛ سال ۱۰، شماره۳۹ ، صفحات ۳۵ تا ۳۹.

۵. میرمیران پروین، شیخ‌الاسلام ربابه، هدایتی مهدی، حاجی‌پور رامبد، سربازی نرگس، عزیزی فریدون. پایش شیوع گواتر و میزان ید ادرار در دانش‌آموزان ۸ تا ۱۰ ساله استان سمنان در سال ۱۳۷۵. مجله پژوهش در پزشکی، ۱۳۸۱؛ سال ۲۶، شماره ۱ ، صفحات ۷۱ تا ۷۵.

٦. سالارکیا ناهید، هدایتی مهدی، رئیس‌زاده فربد، میرمیران پروین، کیمیاگر مسعود، عزیزی فریدون. پایش ید در دانش‌آموزان روستاهای واقع در شمال غرب تهران ۱۰ سال پس از ید رسانی. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۸۰؛ سال ۳، شماره۱۲ ، صفحات ۲۷۱ تا ۲۷۶.

۷. هدایتی مهدی، شیخ‌الاسلام ربابه، میرمیران پروین، راست‌منش رضا، عزیزی فریدون. پایش شیوع گواتر و میزان ید ادرار در دانش‌آموزان ۸ تا ۱۰ ساله استان اردبیل، سال ۱۳۷۵. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ۱۳۸۰؛ سال ۱، شماره۱ ، صفحات ۱۷ تا ۲۱.

www.SID.ir

۸. عزیزی فریدون، شیخ‌الاسلام ربابه، میرمیران پروین، هدایتی مهدی. غلظت سرمی T4, T3 و TSH و میزان ید ادرار در دانش‌آموزان ۸ تا ۱۰ ساله ۲۶ استان کشور. مجله پژوهش در پزشکی، ۱۳۷۹؛ سال ۲۴، شماره۲ ، صفحات ۱۲۱ تا ۱۳۱.

9. Sandell EB and Kolthoff IM, Micro determination of iodine by a catalytic method. Microchemica Acta 1937; 1: 9-25.
10. Aumont G, A semi automated method for determination of total iodine in milk. Ann Rech Vet 1982; 13: 205-210.
11. Fairman WD, Sedlet J. A rapid and sensitive method for the determination of iodine-131 in milk by ion exchange on silver chloride. Anal Chem 1966; 38: 1171-1175.
12. Curtis AR, Hamming P. Differential pulse polarographic determination of total iodine in milk. J Assoc of Anal Chem 1982; 65: 20-23.
13. Parr RM, DeMaeyer EM, Iyengar VG, Byrne AR, Kirkbright GF, Schoch G, et al. Minor and trace elements in human milk from Guatemala, Hungary, Nigeria, Philippines, Sweden, and Zaire. Results from a WHO/IAEA joint project. Biol Trace Elem Res 1991; 29:51-75.
14. Crecelius EA. Determination of total iodine in milk by x-ray fluorescence spectrometry and iodide electrode. Anal Chem 1975; 47: 2034-2035.
15. Gu F, Marchetti AA, Straume T. Determination of iodine in milk and oyster tissue samples using combustion and peroxydisulfate oxidation. Analyst 1997; 122:535-537.
16. Yoshinaga J, Li JZ, Suzuki T, Karita K, Abe M, Fujii H, et al. Trace elements in human transitory milk Variation caused by biological attributes of mother and infant. Biol Trace Elem Res 1991; 31: 159-170.
17. Ohno S. Simple and rapid determination of iodine in milk by radioactivation analysis. Analyst 1980; 105: 246-250.
18. May W, Wu D, Estman CJ, Bourdoux P, Maberly GF, Evaluation of automated urinary iodine methods-problems of interfering substances.Clin Chem,1990;36: 865-869.
19. Heather LP, Bradley TJ. Determination of Non-metals by High Performance Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Detection. Appl Spect Rev 2003; 38: 71-99.
20. Hilp M. Determination of iodine values according to Hanus using 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin (DBH): analytical methods of pharmacopeias with DBH: part 7. J Pharm Biomed Anal 2002; 28: 81-6.
21. Bermejo BP, Aboalsomoza M, Bermejo BA Cervera L, Guardia M. Microwave assisted distillation of iodine for the indirect atomic absorbtion spectrometric determination of iodine in milk samples. J Anal At Spectrom 2001; 16: 382-9.
22. Haldimann M, Eastgate A, Zimmerli B. Improved measurment of iodine in food samples using inductively coupled plasma isotope dilution mass spectrometry. Analyst 2000; 125: 1977-1982.
23. Herzing I, Poul J, Pisarikova B, Gopfert E. Milk iodine concentration in cows treated orally or intramuscularly with a single dose of iodinated fatty acid esters. Vet Med Czech, 2003; 48: 155-162.
24. Tajtakova M, Capova J, Bires J, Sebokova E, Petrovicova J. Thyroid volume, urinary and milk iodine in mothers after delivery and their newborns in iodine-replete country. Endocr Regul 1999; 33: 9-15 .
25. Fischer PW, L'Abbe MR. Acid digestion determination of iodine in foods. J Assoc Of Anal Chem 1981 ; 64: 71-4.
26. Ana Rita de A. N, Mockiuti F, Batista de Sara G, Primavesi O. Flow injection spectrophotometric catalytic determination of iodine in milk .Analytical sciences 1998;14: 559-564.
27. Sturup S, Buchert A. Direct determination of copper and iodine in milk and milk powder in alkaline solution by flow injection inductively coupled plasma mass spectrometry. Anal Bioanal Chem 1996; 354: 323-6 .

www.SID.ir

Original Article

Acid Digestion and Microplate Reading Method for Milk Iodine Determination

Hedayati M, Ordookhani A, Daneshpour MS, and Azizi F.

Endocrine and Metabolism Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran,I. R. Iran
e-mail: hedayati@erc.ac.ir

Abstract

Introduction: Main shortcomings in existing methods for iodine determination in milk samples are non safe alkaline solution, harsh thermal conditions, and their being time consuming. In this study, for determination of total iodine content in milk, a simple and rapid kinetic catalytic colorimetric, acid digestion and rapid microplate reading format method, was investigated. Materials and Methods: Sample digestion was done on 50□L milk in metavanadate/perchloric acid, at 230◦C for 10 min. After digestion, iodine determination was based on famous Sandell – Kolthoff reaction. The reaction results were read in 96 wells microplate by ELISA reader. Results: Work range of the assay was between 2-40µg/dl. The within-run coefficient of variation percent ranged from 6. 7 to 9. 3 and between-run coefficients of variation ranged from 8.6 to 12.3%. The results obtained (n=70) by the optimized method had good correlation with the results of alkaline incineration as the reference method (p<0.000, n=70; r2=0.907; y=0. 952x-0.084). Recovery tests for accuracy assessment were between 91.3 to 113%. This method enabled us to achieve 0.1 µg/dl sensitivity. Conclusion: This study showed that, fast acid digestion, mild thermal, fast results reading and low sample volume, were the main advantages of the acid digestion and microplate reading format investigated.

Key words: Acid digestion, Milk iodine, Microplate reading

www.SID.ir