

WALIDACJA SPEKTROFOTOMETRYCZNEJ METODY OZNACZANIA JODU W MOCZU*

Robert Gąsior

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Centralne Laboratorium, 32-083 Balice k. Krakowa

Zwalidowano metodę oznaczania zawartości jodu w moczu. Badania przeprowadzono na 91 próbkach, wykonując łącznie 187 analiz. Powtarzalność i odtwarzalność metody nie przekraczały odpowiednio 6% i 8%. Niepewność metody ($P \leq 0,05$) uwzględniająca błędy odtwarzalności, czystości wzorca, odzysku oraz szkła miarowego wynosiła 15,2% ($n = 2$) i 18,9% ($n = 1$). Granica oznaczenia ilościowego w oznaczanym roztworze próbki wynosiła 12,5 $\mu\text{g/L}$. Podczas wykonywania rutynowych analiz powinien być sprawdzany współczynnik zmienności, który nie powinien przekraczać granicy powtarzalności wynoszącej 12%.

Jod jest niezbędnym pierwiastkiem dla ludzi i zwierząt, wpływającym na wiele funkcji życiowych. Należy do pierwiastków odpowiedzialnych za regulację przemiany materii i jest elementem składowym hormonów tarczycowych tyroksyny i tyroniny, które regulują wszystkie szlaki przemiany materii oraz wywierają szczególnie ważny wpływ na rozwój układu nerwowego i mózgu. Badania zawartości jodu w moczu mają istotne znaczenie dla realizacji profilaktyki jodowej. Przeprowadza się je w ramach Programu Eliminacji Niedoboru Jodu (2006), co jest związane z faktem, że Polska leży w obszarze niedoboru jodu ze względu na właściwości geofizyczne szczególnie odczuwalne na terenach górzystych. Głównym objawem niedoboru jodu jest powstanie tzw. woli endemicznych pociągających za sobą zwiększoną chorobowość gruczołu tarczycowego. W efekcie powoduje to opóźniony rozwój psychomotoryczny u dzieci, obniżenie funkcji reprodukcyjnych oraz wpływ na ogólny rozwój intelektualny społeczeństw (Program Eliminacji Niedoboru Jodu, 2006). W Polsce jod jest uzupełniany przez wprowadzenie do spożycia soli zawierającej jego dodatek. Jednak w wyniku zapobiegania nadciśnienia i miażdżycy powodowanym przez sól spożywczą coraz częściej źródłem jodu są produkty zwierzęce, w tym mleko od krów żywionych paszą wzbogaconą w jod (Brzóska, 2008; Brzóska i in., 2009). Na podstawie wyników badania jodu w moczu zwierząt można określić stopień pokrycia zapotrzebowania na jod, biorąc pod uwagę ocze-

*Praca finansowana z podzadań nr 05-6.04.1; 05-6.03.1.

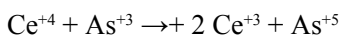
kiwany poziom tego pierwiastka w produktach zwierzęcych. Dlatego też Centralne Laboratorium IZ PIB opracowało szybką metodę analiz mleka na zawartość jodu, wraz z Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i Działem Żywnienia Zwierząt Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego biorąc udział w Programie Eliminacji Niedoboru Jodu. Efektem tej współpracy jest również wdrożenie przez Centralne Laboratorium opisanej tutaj metody oznaczania jodu w moczu i jej walidacja zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17025 (2005).

Znane są jodometryczne metody oznaczania jodu, zalecane przez ICCIDD (International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders, Dearth-Wesley i in., 2004), czy inne, wykorzystujące techniki ICP, chromatografii jonowymiennej i aktywacji neutronowej (Fecher i in., 1998; Hurst i in., 1983; Xiaolin i in., 1998). Jednak sprawdzoną i często stosowaną jest metoda oparta na reakcji Sandella-Kolthoffa (Sandell i Kolthoff, 1937; Gnat i in., 2003; Górski i Bobek, 1960). Tego typu metody dotyczące oznaczania tego pierwiastka w żywności zostały już przez Centralne Laboratorium zwalidowane (Gąsior i Szczypuła, 2010). Brak jest jednak publikacji dotyczących walidacji takiej metody w odniesieniu do moczu, przedstawiającej charakterystykę z uwzględnieniem takich parametrów, jak: powtarzalność, odtwarzalność, granica powtarzalności, granica oznaczenia ilościowego, odzysk, niepewność. Parametry te, ogólnie opisane w literaturze (Dobecki, 2004; Ellison i in., 2000) są często stosowane przez laboratoria akredytowane, pracujące zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17025 (2005) i ułatwiają poznanie ograniczeń metody.

Celem pracy była walidacja prostej spektrofotometrycznej metody oznaczania zawartości jodu w moczu w oparciu o reakcję Sandella-Kolthoffa, po mineralizacji próbki z nadsiarczanem amonu (Pino i in., 1998). Metoda obejmuje rzadko opisywane zagadnienie dotyczące szacowania niepewności i uzupełnia zakres analiz w systemie zarządzania Centralnego Laboratorium.

Material i metody

Metoda polega na mineralizacji badanego materiału w nadsiarczanie amonu w temp. 91–95°C i spektrofotometrycznym oznaczeniu zawartości jodu, wykorzystującym reakcję:



Odczynniki i aparatura

Użyto następujących odczynników: NaCl (POCH, Gliwice), H₂SO₄ (Chempur, Piekary Śląskie), (NH₄)₂S₂O₈ i (NH₄)₄Ce(SO₄)₄ × 2 H₂O (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), As₂O₃ (VEB Jenapharm-Laborchemie Apolda, GDR) standard jodu (Merck, Darmstadt, Niemcy). Przygotowano je w sposób podany poniżej:

a) roztwór nadsiarczanu amonu: 228,2 g (NH₄)₂S₂O₈ /L H₂O, przechowywany w ciemności jest trwały 6 miesięcy,

b) kwas arsenowy: 5 g As₂O₃ + 25 g NaCl + 200 ml 5N H₂SO₄ /L H₂O, przechowywany w ciemności jest trwały 6 miesięcy,

c) siarczan (VI) ceru (IV) amonu: 24 g siarczanu ceru amonu $(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4$ /L 3,5 NH_2SO_4 (przyrządzony co najmniej 24 h przed użyciem, podczas przechowywania w ciemności jest trwały 6 miesięcy),

d) roztwór standardu jodu A (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$): 0,168 g KIO_3 /L H_2O , przechowywany w lodówce jest trwały przez 6 miesięcy,

e) roztwór standardu jodu B (0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$): 0,5 ml roztworu A /100 ml H_2O , przechowywany w lodówce jest trwały przez 1 miesiąc.

Odczynniki były klasy cz.d.a lub wyższej. Używano wody redestylowanej.

Oprócz podstawowego wyposażenia laboratoryjnego wykorzystano: spektrofotometr UV-VIS (Beckman 640 DU, USA), termostat Peltiera na kuwety do oznaczeń spektrofotometrycznych, blok grzejny do mineralizacji z otworami na próbówki 13x100 mm z możliwością wyboru temperatury grzania do 110°C i stabilnością temperatury około 0,1°C, próbówki 13x100 mm z zakręcanymi korkami (SHOTT, Merck), wytrząsarka typu vortex.

Procedura przygotowania próbki i oznaczania zawartości jodu

Dostarczoną próbkę materiału do czasu analizy przechowywano w zamrażarce. Przed analizą próbkę rozmrażano i dokładnie mieszano tuż przed pobraniem, by ewentualny osad został równomiernie rozmieszczony w próbce. 250 μl próbki moczu pipetowano do próbówki 13 x 100 mm, dodawano 1 ml roztworu nadsiarczanu amonu i po zakręceniu próbówki mieszano. Po ogrzaniu w bloku grzejnym w temperaturze 91–95°C i schłodzeniu do temperatury pokojowej, dodawano 3,5 ml kwasu arsenowego, mieszano i pozostawiano na 15 minut. Następnie wykonywano pierwszy pomiar: w 60 sekundowych odstępach czasu do każdej próbówki dodawano po 400 μl roztworu siarczanu(VI) cerowo(IV)-amonowego, ponownie mieszano i po przelaniu do kuwety pomiarowej mierzono ekstynkcję początkową (E1) przy długości fali $\lambda=420$ nm, umieszczając następnie kuwetę w termostacie Peltiera (250C). Dokładnie po 30 minutach od dodania do pierwszej próbówki roztworu siarczanu (VI)cerowo(IV)-amonowego wykonywano drugi pomiar (ekstynkcja końcowa E2, $\lambda=420$ nm). Sukcesywnie co 60 sekund odczytywano ekstynkcję E2 pozostałych prób.

Roztwory wzorcowe przygotowano pipetując w powtórzeniu 0, 10, 75, 150 μl roztworu standardu jodu B, do 8 próbek zawierających odpowiednio 250, 240, 175, 100 μl wody, tak aby otrzymać w każdej próbówce łączną objętość roztworu wynoszącą 250 μl . Stężenia jodu w roztworach wzorcowych wynosiły odpowiednio: 0, 20, 150, 300 $\mu\text{g}/\text{L}$. Stanowiły one podstawę do wykreślenia krzywej kalibracji (4 punkty kalibracyjne). Do tak wstępnie przygotowanych roztworów wzorcowych dodawano 1 ml roztworu nadsiarczanu amonu i dalej postępowano analogicznie jak w przypadku próbek.

Obliczenia

Zawartość jodu w moczu I ($\mu\text{g}/\text{L}$) obliczono z wzoru 1:

$$I = [a(\log E1 - \log E2) + b] \times c \quad (1)$$

gdzie: $E1$ i $E2$ to odpowiednio ekstynkcja początkowa i końcowa próbki, a , b to współczynniki krzywej kalibracji (slope and y-intercept, odpowiednio), c – rozcieńczenie. Zawartość jodu można również odczytać z krzywej wzorcowej.

Walidacja

Badania powtarzalności i odtwarzalności przeprowadzono na 73 i 18 próbkach moczu, odpowiednio, wykonując łącznie 187 analiz. Powtarzalność % (tab. 1) określano jako nie mniejszą niż skumulowany współczynnik zmienności pojedynczych oznaczeń przeprowadzonych tą samą metodą, w badaniach identycznego materiału, w tym samym laboratorium, przez tego samego laboranta, w tym samym czasie. Odtwarzalność % (tab. 1) określano jako nie mniejszą niż skumulowany współczynnik zmienności pojedynczych oznaczeń przeprowadzonych tą samą metodą, w badaniach identycznego materiału, w tym samym laboratorium, przez dwóch laborantów, w różnym czasie. Skumulowany współczynnik zmienności CV_{mn} dla m próbek analizowanych w n powtórzeniach był liczony z wzoru 2, gdzie CV_{n2} jest współczynnikiem zmienności oznaczenia danej próbki w powtórzeniu ($n = 2$):

$$CV_{mn} = \sqrt{\frac{\sum CV_{n2}^2}{m}} \quad (2)$$

Jako kryterium powtórzenia oznaczeń (granica powtarzalności) przyjęto podwojony współczynnik zmienności dla powtarzalności. Odzysk określono przez porównanie wyników analiz materiału referencyjnego (Seronom Trace Elements Urine, Billingstad, Norwegia) z wartością referencyjną (304 ± 34 , $\mu\text{g/L}$). Granicę oznaczenia ilościowego (ang. LOQ, Limit Of Quantification) wyznaczono z wzoru $LOQ = 10 \times SD$, gdzie SD jest odchyleniem standardowym zawartości jodu w ślepej próbce, odpowiadającej zerowemu punktowi kalibracyjnemu (patrz: Procedura przygotowania próbki i oznaczania zawartości jodu). Sprawdzono również liniowość krzywej kalibracji i określono jej zakres roboczy.

Określono główne składowe niepewności metody (wyrażone w postaci względnej, %), takie jak: niepewność odtwarzalności ($u1\%$), niepewność odzysku ($u2\%$) oraz niepewność czystości zakupionego wzorca ($u3\%$) i niepewność związana z niepoprawnością (poprawność = trueness jest zdefiniowana w przewodniku VIM (ISO IEC Guide, VIM, 2007) i opisana w pracy Hauck i in. (2008) pipet ($u4\%$) oraz kolbek ($u5\%$). Niepewności przed ich złożeniem wyrażano jako niepewności standardowe $u_1\%$ (poziom ufności 68%, $P \leq 0,32$). Standardową niepewność złożoną metody $u_c\%$ liczący w oparciu o zasadę propagacji niepewności z wzoru 3:

$$u_c\% = \sqrt{u1\%^2 + u2\%^2 + u3\%^2 + u4\%^2 + u5\%^2} \quad (3)$$

Standardową niepewność odtwarzalności ($u1\%$) zawierającą większość błędów, w tym przygotowania próbki, zdefiniowano jako odtwarzalność % podzieloną przez pierwiastek z n analiz danej próbki (wzór 4):

$$u1\% = \frac{\text{Odtwarzalność \%}}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

Niepewność standardową odzysku przyjęto jako nie mniejszą niż współczynnik zmienności średniej arytmetycznej z wartości odzysków wyznaczonych podczas walidacji. Niepewności standardowe dotyczące czystości wzorca oraz używanych kolb

i pipet (ale tylko w części wynikającej z niepoprawności związanej z obciążeniem, nieujęty w powtarzalności i odtwarzalności) były liczone na podstawie określonych wartości błędów granicznych a_i , wyrażonych w postaci względnej, %. W przypadku kolbek i pipet, wartości a_i były szacowane na podstawie przyjętej w laboratorium procedury kalibracyjnej i wynikających z niej założeń, a w przypadku czystości wzorców na podstawie deklaracji producenta. Przy założeniu o symetrycznym rozkładzie prostokątnym średnich wartości mierzonych wokół wartości nominalnej w przedziale wyznaczonym przez a_i , niepewności $u_i\%$ są określane wzorem $u_i\% = a_i / \sqrt{3}$ (Ellison i in., 2000). W trakcie analizy używano kilku pipet i kolbek, więc czynnik niepewności związany z niepoprawnością pipet i kolbek liczono składając poszczególne składowe zgodnie z zasadą propagacji. Niepewność metody $U_c\%$ (poziom ufności 95%, $P \leq 0,05$) liczono mnożąc standardową niepewność złożoną metody $u_c\%$ przez współczynnik rozszerzenia $k=2$ (Ellison i in., 2000). Niepewności $u_c\%$ i $U_c\%$ określono dla $n = 2$ i $n = 1$.

Wyniki

Wartości dotyczące powtarzalności i granicy powtarzalności oraz odtwarzalności zebrano w tabeli 1. Również w tej tabeli umieszczono budżet niepewności zawierający wszystkie poznane istotne czynniki niepewności, wraz z standardową niepewnością złożoną i rozszerzoną niepewnością złożoną, dla analiz powtórzonych i bez powtórzeń ($n = 2$ i $n = 1$). Obliczony dokładnie odzysk określony metodą porównania z wartością referencyjną referencyjnej próbki moczu wynosił około 97,8 %. LOQ odpowiadający granicznej zawartości jodu dającej się w sposób wystarczająco pewny oznaczyć odpowiada dziesięciokrotnej wartości odchylenia standardowego ślepej próby i wynosił 12,5 $\mu\text{g/L}$ moczu. Krzywa kalibracji wykonana na podstawie sporządzonych roztworów wzorcowych jodu jest prostą spełniającą liniową zależność między zawartością jodu w badanym roztworze a różnicą logarytmów ekstynkcji pomiarów na początku i po określonym czasie reakcji, charakteryzującą się współczynnikiem determinacji r^2 nie mniejszym niż 0,99. Zakres roboczy krzywej kalibracji odpowiadał stężeniom analizowanych roztworów w zakresie od 12,5 do 300 ($\mu\text{g/L}$)

Tabela 1. Parametry walidacyjne metody oznaczania jodu w moczu
Table 1. Validation parameters for urinary iodine determination method

Powtarzalność Repeatability (%)		Granica powtarzalności Limit of repeatability (%)		Odtwarzalność Reproducibility (%)	Odzysk (SD) Recovery (SD) (%)	
6,0		12,0		8,0	97,8 (2,2)	
$u1\% *$ $n=2/n=1 **$	$u2\% *$	$u3\% *$	$u4\% *$	$u5\% *$	$u_c\% *$ $n=2/n=1 **$	$U_c\% * (k=2)$ $n=2/n=1 **$
5,7/8,0	3,0	2,9	2,8	0,4	7,6/9,5	15,2/18,9

* Wyjaśnienia znajdują się w tekście podrozdziału Walidacja w rozdziale Materiał i metody.

** n – liczba powtórzonych analiz jednej próbki.

* For explanations see Validation under Material and methods.

** n – number of repeated analyses of one sample.

Omówienie wyników

Opisana i zwalidowana w niniejszej pracy metoda jest powtarzalna, odtwarzalna i cechuje się niską wartością LOQ. Pozwala ona na ilościowe oznaczenie niewielkich ilości jodu, nawet na poziomie 12,5 µg/L, przy czym w praktyce zawartości jodu w moczu były większe niż 20 µg/L. Wartość odzysku określonego w tej pracy była bardzo wysoka i, uwzględniając niepewności materiału referencyjnego i odzysku, praktycznie wynosiła 100%. W związku z tym nie korygowano wyniku surowego (wzór 1 nie zawiera współczynnika korekcyjnego wynikającego z odzysku). W pracy wcześniejszej (Gąsior i Szczypuła, 2010) odzyski określone dla oznaczeń jodu w żywności i krwi były niższe, co należy tłumaczyć bardziej skomplikowanym przygotowaniem próbek tych materiałów (bardziej złożona matryca próbek) do analizy, niż ma to miejsce w przypadku moczu. Również względnie niskie wartości powtarzalności i odtwarzalności należy wiązać z prostym sposobem przygotowania próbek.

Na niepewność metody składają się głównie czynniki niepewności, takie jak: niepewność odtwarzalności, niepewność odzysku i czystości zakupionego wzorca, a także niepewność związana z niepoprawnością (tzn. obciążeniem rozumianym jako różnica między wartością rzeczywistą a wartością nominalną) pipet i kolb miarowych. Wyżej wymienione elementy można potraktować jako odrębne czynniki niepewności, które wpływają na złożoną niepewność metody. Pozostałe czynniki związane z precyzją pipet i kolb miarowych, a także precyzją ważenia zostały już automatycznie uwzględnione w odtwarzalności i dlatego nie wchodzi one do budżetu niepewności jako odrębne jego czynniki (Ellison i in., 2000; Gąsior i in., 2009). Podobnie jest w przypadku niepewności krzywej kalibracji, gdyż z każdą serią analiz sporządza się osobną krzywą, a to powoduje, że błędy z nią związane są już ujęte w odtwarzalności. W ten sposób niepewność odtwarzalności staje się podstawowym czynnikiem, mającym największy wkład w całkowitą niepewność złożoną. Niepewność odtwarzalności zawiera przede wszystkim błędy przygotowania próbki i samego oznaczenia spektrofotometrycznego, ale błędy te są automatycznie uwzględnione w tej niepewności tylko wówczas, jeżeli obliczane z dwóch powtórzeń wyniki dotyczą oznaczeń jodu w dwóch równoległe naważonych próbkach. Gdyby próbka była naważona bez powtórzeń, a jej roztwór był analizowany dwukrotnie, to wtedy niepewność odtwarzalności obejmowałaby tylko błąd samego oznaczenia na aparacie, a nie całego procesu przygotowania próbki (Gąsior i in., 2007; Gąsior i Szczypuła, 2010). Wymienione wyżej niepewności: odtwarzalności ($u1\%$), odzysku ($u2\%$), czystości zakupionego wzorca ($u3\%$) oraz niepoprawności pipet ($u4\%$) i kolbek ($u5\%$), wnoszą, zgodnie z zasadą propagacji Gaussa, największy wkład w wartość niepewności metody dla analiz wykonanych w jednym laboratorium, a rozszerzona niepewność metody $U_c\%$ ($P \leq 0,05$), określa przedział tolerancji w jakim powinna się znaleźć z prawdopodobieństwem 95% rzeczywista wartość wyniku oznaczenia. Niepewność powinna być kontrolowana przy analizie każdej próbki poprzez sprawdzanie w warunkach powtarzalności współczynnika zmienności pojedynczych oznaczeń, który nie powinien przekraczać określonej w czasie walidacji granicy powtarzalności.

Wyniki walidacji świadczą o tym, że opisana w tej pracy metoda jest wiarygodna, dokładna i precyzyjna. Dodać jednak należy, że podane parametry charakterystyki

mogą się nieco zmieniać w zależności od zakresów zawartości jodu i rodzaju matrycy (nietyпова próbka), a niepewność metody można zmniejszyć przez zwiększenie ilości oznaczeń przypadających na jedną próbkę ($n \geq 2$).

Piśmiennictwo

- Brzóska F. (2008). Sól i lizawki solne w żywieniu krów mlecznych oraz w profilaktyce jodowej człowieka. *Wiad. Zoot.*, 4: 9–22.
- Brzóska F., Szybiński Z., Śliwiński B. (2009). Iodine concentration in Polish milk – variations due to season and region. *Pol. J. Endocrinol.*, 60, 6: 449–454.
- Dearth-Wesley T., Makhmudov A., Pfeiffer C.M., Caldwell K.. (2004). Fast and reliable salt iodine measurement: evaluation of the WYD Iodine Checker in comparison with iodometric titration. *Food Nutr. Bull.*, 25: 130–137.
- Dobecki M. (2004). Zapewnienie jakości analiz chemicznych. Instytut Medycyny Pracy, Łódź.
- Ellison S.L.R., Rosslein M., Williams A. (Eds) (2000). Quantifying uncertainty in analytical measurement. Eurachem/Citac Guide 2000.
- Fecher P.A., Goldmann I., Nagengast A. (1998). Determination of iodine in food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction. *J. Anal. Spectr.*, 13: 977–982.
- Gąsior R., Pieszka M., Brzóska F. (2009). Validation of a method for simultaneous determination of tocopherols and tocotrienols in cereals using Normal Phase HPLC. *J. Anim. Feed Sci.*, 18: 173–192.
- Gąsior R., Szczypuła M. (2010). Validation of a method for determination of iodine in food and biological material. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 37, 1: 63–73.
- Gąsior R., Szczypuła M., Sala K. (2007). Walidacja metody oznaczania azotu w paszach i materiale mięsnym. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 34, 1: 131–139.
- Gnat D., Dunn A., Chaker S., Delange F., Vertongen F., Dunn J.T. (2003). Fast colorimetric method for measuring urinary iodine. *Clin. Chem.*, 49: 186–188.
- Górski L., Bobek S. (1960). Alkaliczna metoda oznaczania jodu w osoczu krwi. *Endokrynol. Pol.*, XI, 77.
- Hauck W.W., Koch W., Abernethy D., Williams R.L. (2008). Making sense of trueness, precision, accuracy, and uncertainty. *Pharmacopeial Forum*, 34, 3: 838–842.
- Hurst W. Jeffrey, Snyder Kevin P., Martin Jr. Robert A. (1983). The determination of iodine in milk and milk chocolate by anion HPLC. *J. Liq. Chromatogr. R. T.*, 1520-572X, Vol. 6, Issue 11: 2067–2077.
- ISO/IEC Guide (VIM) (2007). International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms. 3rd ed. Geneva. Switzerland.
- Pino S., Fang S.L., Braverman L.E. (1998). Ammonium persulfate: a new and safe method for measuring urinary iodine by ammonium persulfate oxidation. *Exp. Clin. Endoc. Diab.*, 106 (Suppl. 3): 22–27.
- PN-EN ISO/IEC 17025 (2005). Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących. Polski Komitet Normalizacyjny.
- Program Eliminacji Niedoboru Jodu (2006). <http://www.mz.gov.pl/wwwmz/index?mr=b3&ms=0&ml=p1&mi=0&mx=0&mt=&my=533&ma=8070>
- Sandell E.B., Kolthoff I.M. (1937). Micro determination of iodine by a catalytic method. *Mikrochim. Acta*, 1: 9–25.
- Xiaolin H., Xiangqian F., Qinfang Q., Chifang Ch. (1998). A study of iodine loss during the preparation and analysis of samples using 131I tracer and neutron activation analysis. *Analyst*, 123: 2209–2213.

ROBERT GAŠIOR

Validation of a spectrophotometric method for urinary iodine determination

SUMMARY

A method for urinary iodine determination was validated. The study was conducted with 91 samples subjected to 187 analyses. Repeatability and reproducibility of the method did not exceed 6% and 8%, respectively. Method uncertainty ($P \leq 0.05$), which accounted for errors of reproducibility, standard purity, recovery and volumetric glassware was 15.2% (n=2) and 18.9% (n=1). The limit of quantitation in the analysed sample solution was 12.5 $\mu\text{g/L}$. The coefficient of variation, which should not exceed the repeatability limit of 12%, should be checked during routine analyses.

Key words: iodine, urine, validation, uncertainty