

УДК 615.03

Сравнительный анализ методов определения йода в биологических жидкостях

А. В. Гиносян, А.С. Оганесян

*Институт общей и неорганической химии НАН РА
0051, Ереван, ул. Аргутяна, 10, II переулок*

Ключевые слова: йод, йодид анион, фармакокинетика, методы определения йода

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), около 2 млрд человек, в том числе 285 млн детей школьного возраста, имеют дефицит йода. Согласно данным ООН, около 740 млн людей страдают йододефицитными заболеваниями, а более 50 млн из них страдают от повреждения головного мозга [3]. С другой стороны, известно, что употребление большого количества йода может блокировать способность щитовидной железы производить гормоны и ухудшить инфильтрацию щитовидной железы лимфоцитами.

В начале XXI века была доказана определенная роль йода в поддержании здоровья, защите против инфекций и лечении различных заболеваний, в том числе отдельных форм рака и диабета [3,9,11]. Многочисленными исследованиями, проведенными в 2000-2010 гг., было доказано, что эффективность йода не связана с воздействием на специфические органы и ткани, и показано, что воздействие на клетки человеческого организма коррелирует с концентрацией йод/йодида в биологических жидкостях, а также доказано, что концентрация йода в моче является основным индикатором состояния йододефицита [1-4].

Стало очевидным, что для изучения роли йода в живых организмах необходим мониторинг его концентрации в организме и исследование его фармакокинетики, что подразумевает наличие мощных аналитических методов определения концентрации йода в биологическом материале [7,8]. В связи с этим представляет определенный интерес провести сравнительный анализ методов определения йода.

Целью данного обзора является сравнительный анализ имеющейся информации о методах определения йода в биологических образцах, в аспекте их оптимального использования для определения роли йода в биологических жидкостях.

Выбор биоматериала для определения йода в организме

Для определения йода в клинической практике наиболее часто используемым биоматериалом являются моча и сыворотка крови.

В моче, крови и биологических тканях йод в подавляющем количестве случаев определяется в виде йодид аниона (I^-) [9,10]. Несмотря на широкий выбор доступных аналитических методов, определение йодид аниона в биологических матрицах остается трудной задачей.

Биологические образцы относятся к так называемым сложным образцам (с комплексными матрицами). В таких образцах содержание анализируемого вещества, как правило, гораздо ниже по сравнению с другими сопроводительными макрокомпонентами и в этих случаях, помимо необходимости выбора соответствующего чувствительного метода, не менее важно соблюдать условия предварительной обработки и сохранения биоматериала, а также условия экстракции и приготовления образца для инструментального анализа [20,21].

Выбору оптимального метода определения йода (I^2 и I^-) мешают большие различия в эндогенных концентрациях йода в моче и крови отдельных индивидуумов, которые связаны с многочисленными переменными, такими как возраст, пол, привычки питания и состояние внешней среды [17,28,32].

Таким образом, для того, чтобы достичь успешных и удовлетворительных результатов, перед применением соответствующего метода определения йода необходимо правильно выбрать конкретную задачу. Вместе с тем в связи с неинвазивным способом отбора проб моча является наиболее часто анализируемой биологической жидкостью, как в фармакокинетических, так и в популяционных исследованиях [4,12,13].

Условно методы определения йода в моче и крови можно разделить на две группы: аналитические методы, используемые для изучения фармакокинетики, и методы, предназначенные для анализа состояния дефицита йода в популяциях.

Фармакокинетические исследования

Основными аналитическими методами, используемыми для изучения фармакокинетики йода, являются потенциометрические методы. Один из первых валидированных методов, применяемых для исследования фармакокинетики йода в крови и моче, был предложен А.Г. Паносян с соавторами в 2000 г. Метод был использован для изучения кинетики изменения концентрации йодид аниона в моче и крови животных и человека после применения внутривенной инфузии йодсодержащего препарата «Арменикум». Метод примечателен тем, что в нем были использованы классические методы подготовки проб крови и мочи для проведения титрометрического определения йодид аниона в биожидкостях [5]. В частности, после отделения крови ее смешивали с сапонином и инкубировали при 37 °C в течение 16 час для проведения гемолиза. Затем к 10

мл полученной смеси добавляли 20 мл деионизированной воды, свободной от йода и 2 мл 15% азотной кислоты и проводили титрацию с использованием 0,009319 N нитрата серебра. Определение йодид аниона проводили с применением комбинированного серебряного электрода на автоматическом титрометре.

Для определения йода в моче использовали 2 мл мочи, к которой добавляли 15% азотную кислоту и проводили потенциометрическое определение йодид аниона по методу, указанному выше. Чувствительность метода составляла 5 мкг/мл, точность – 95%, систематическая ошибка метода – 3,2%. Недостатками метода являлись в первую очередь низкая чувствительность и избирательность [14,22].

Данные проблемы удалось решить в 2004 г. группе ученых, возглавляемой Гай Абраамом [6-13]. Авторы использовали первоначальную очистку сыворотки крови от белков и других галогенов, применяя специальные ионообменные порошки. После пропускания биологической жидкости через порошок, помещенный в шприц, галогены элюировались раствором азотнокислого натрия (NaNO_3). В дальнейшем авторы перешли на метод твердофазной экстракции. Наилучшие результаты были получены при использовании картриджей, наполненных сильным анионообменным порошком с концевыми триметиламмониевыми группами и покрытым специальным защитным слоем из дивинилбензола. Картриджи такого типа позволяли при пропускании биожидкости связывать более 75% йода и проводить его отделение, используя градиентное элюирование NaNO_3 разной нормальности. Метод позволял освободить йодид анион из связи с белками и одновременно последовательно очищать сыворотку от фторидов, хлоридов и бромидов. Несмотря на то, что основным галогеном, мешающим точно определять анион йода, является бромид, для освобождения которого достаточно проводить двукратную очистку, авторы доказали, что четырехкратная очистка ионообменного картриджа более эффективна, чем двукратная. Концентрацию йодид аниона определяли с помощью йодочувствительного электрода. Чувствительность метода определения йодид аниона составляла 20 нг/мл, точность – 96%, воспроизводимость – 97%. С помощью разработанного и валидированного метода была в дальнейшем изучена фармакокинетика йода после применения различных доз препарата йодорал [6-8,10,13].

Данный метод в дальнейшем был усовершенствован А.Г. Абраамян с соавторами и оказался пригодным как при анализе йода в крови, так и моче [1]. Для обнаружения йодид аниона 5 мл мочи или сыворотки крови в полном объеме пропускали через картриджи для твердофазной ионообменной экстракции. Затем картриджи промывали, используя градиентное элюирование. Элюент, содержащий йодид анион, собирали в пробирки, добавляли 10 мл воды, перемешивали и измеряли количество йодид аниона методом потенциометрии, используя йодоселективный электрод. Кон-

центрацию йодид аниона определяли по калибровочному графику, который сохранял линейность для растворов стандарта в диапазоне концентраций йодид аниона от 0,006 до 50 мкг/мл ($r = 0,9988$). Предел детектирования в сыворотке крови составлял 0,001 мкг/мл, предел количественного обнаружения – 0,001 мкг/мл. Точность метода составляла $95 \pm 2\%$, селективность метода – $99 \pm 2\%$. Специфичность, повторяемость и воспроизводимость метода характеризовались коэффициентом вариации менее 5%, что соответствует валидационным требованиям для методов определения препаратов в биожидкостях [1,13].

В дальнейшем для изучения фармакокинетики йодид аниона в моче и крови этими же авторами был предложен метод высокoeffективного капиллярного электрофореза (ВЭКЭ), который значительно увеличил селективность и специфичность метода [13]. Количественное определение проводилось на основе калибровки методом внешнего стандарта с помощью детектора с диодной матрицей (по основному сигналу при 225/8 нм, сигнал сравнения – 500/100 нм). Для определения йодид аниона использовали 0,9 мл сыворотки крови, к которой добавляли 0,1 мл водного раствора внутреннего стандарта (калия йодид 5 мкг/мл). После перемешивания к смеси добавлялся 1 мл метанола, и смесь интенсивно встряхивалась в течение 30 сек. Затем добавлялся 1 мл перекиси водорода (10% раствор) и после повторного встряхивания смесь центрифугировалась при 2000g в течение 15 мин для осаждения белков. Безбелковый супернатант отделялся и анализировался методом ВЭКЭ. Для определения йодид аниона в моче к 0,9 мл мочи добавлялся 0,1 мл водного раствора внутреннего стандарта (калия йодида 5 мкг/мл) и проводился анализ методом ВЭКЭ. Анализ проводился на приборе Hewlett Packard Capillary Electrophoresis System, consisting of HP^{3D}CE. Образцы анализировали в следующих условиях: *подвижная фаза* – 50 мМ фосфатный буфер pH – 7,0; *капилляр* – HP № G 1600-61232; *температура* – 25°C; *вольтаж* – 25 кВ. Селективность и специфичность метода характеризуется величиной коэффициента вариации (CV) менее 2%. Правильность и точность определения йодид аниона составляла не менее 90%. Методика была линейна в диапазоне 0,25–20 мкг/мл. Предел количественного определения 150 нг/мл. Установлено, что стабильность маточного (100 мкг/мл) и рабочего растворов (10 мкг/мл) йодид аниона после их хранения в холодильнике при -20°C в течение 12 недель характеризуется разницей между средними значениями свежеприготовленных и хранившихся в холодильнике растворов менее 3%. Разница в величинах средних значений анализа свежеприготовленных образцов сыворотки и подвергнутых трехкратному замораживанию и размораживанию образцов составляла менее 5% [13].

Таким образом, можно заключить, что метод ВЭКЭ является самым эффективным и надежным для исследования фармакокинетики йодид аниона в моче и крови. Однако относительная дороговизна метода делает

более предпочтительным применение потенциометрического метода с использованием твердофазной экстракции.

Популяционные исследования

В настоящее время для проведения популяционных исследований используются несколько различных аналитических методов определения йода. Эти методы различаются по надежности, точности, доступности, пределу обнаружения, пропускной способности, расходу реагентов и стоимости анализа. Все эти факторы играют определенную роль в выборе наиболее подходящего метода, исходя из того, является ли это рутинный анализ или исследование уровня йода в конкретной популяции. В обоих случаях одним из первых факторов, принимаемых во внимание, является предел количественного определения йодид аниона (чувствительность метода) [17,23,31].

Титрометрический метод используется в основном для образцов без сложных матриц (вода или моча) при этом этот метод используется также для проверки других методов. Как правило, титрометрические методы включают подкисление раствора образца, чтобы определить йод, освобожденный путем титрования тиосульфатом натрия [5,16,18,21]. Однако, несмотря на многочисленные преимущества титрометрических методов, очень немногие из них широко используются в популяционных исследованиях из-за очень высокой стоимости аппаратуры, программного обеспечения и технического обслуживания.

В отличие от титрометрических методов при проведении популяционных исследований спектрофотометрические и хроматографические методы используются очень часто для анализа йода и его различных химических форм.

В последние годы наибольшую популярность приобрели методы, основанные на окислительно-восстановительной реакции Санделла-Кольтхоффа между церием и мышьяком (III), который позволяет определять йод в моче в микрограммовых концентрациях [25,27]. Определение микроколичеств йода (в виде йодид аниона) основано на каталитическом действии мышьяка на процесс восстановления церия (реакция Санделла-Кольтхоффа) [14,19]. Скорость уменьшения интенсивности окраски раствора церия зависит от содержания йода и измеряется методом спектрофотометрии при длине волны 405 нм. В данном методе подготовка проб заключается в последовательной обработке образцов окислительной смесью (раствор персульфата аммония) при повышенной температуре, что способствует разложению всех органических компонентов мочи до неорганического состояния и позволяет высвободить связанный йод. В большинстве случаев анализируемый раствор нагревают в течение 60 мин в термоблоке. По окончании нагрева раствор оставляют в вытяжном шкафу при комнатной температуре на 10–15 мин. При этом закрытые проб-

ками пробирки могут храниться в течение суток до начала анализов. Далее к раствору добавляют арсенидный раствор (по 0,9 мл) и инкубируют при комнатной температуре 15 мин. Затем в каждую пробирку поочередно вносят раствор церия сульфата (по 0,06 мл). Через 30 мин после внесения раствора церия сульфата в первую калибровочную пробу проводят измерение оптической плотности образцов с интервалом в 30 с. Чувствительность метода составляет 11 мкг/л, коэффициент вариации – не более 5%.

Большинство аналитических методов, основанных на спектрофотометрической реакции восстановления Санделла-Кольтхоффа, отличаются лишь применением различных реагентов [25,32]. В частности, Bilek et al. использовали метод, который был основан на щелочном озолении образцов мочи, предшествующий реакции Санделла-Кольтхоффа с использованием бруцина в качестве колориметрического маркера [15]. Предел обнаружения метода составлял 2,6 мкг/л, при этом предел количественного определения составлял 11,7 мкг/л, систематическая погрешность метода составляла 4%, а точность анализа – 95%. С помощью данного метода в течение 1994–2002 гг. в Институте эндокринологии в Чешской Республике определяли концентрацию йода в моче у 29 612 исследуемых [15].

Gurkan et al. был разработан метод, который позволял определять йодид анион в водных средах с помощью кинетического спектрофотометрического метода, в среде слабой кислоты [19]. Главным преимуществом этого метода были изменения на стадии предварительной обработки образцов. Чувствительность метода составляла 1,2 нг/мл и позволяла проводить определения йодид аниона в диапазоне 2–35 нг/мл. К сожалению, несмотря на свои явные преимущества этот метод не получил широкого распространения в популяционных исследованиях.

В то время как основным преимуществом каталитических спектрофотометрических методов является низкая стоимость необходимого оборудования, хроматография, вероятно, наиболее широко используемый метод определения йода в современных аналитических лабораториях. Быстрая, простая, надежная и чувствительная хроматографическая система в сочетании с различными детекторами стала основным инструментом во многих аналитических лабораториях. Рутинный анализ соединений йода может осуществляться с помощью газовой хроматографии (ГХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Методы разделения позволяют проводить прямое определение различных видов йода в присутствии различных видов сложных компонентов с пределом обнаружения в нанограммах [31].

Метод ионообменной хроматографии позволяет определять йодид анион с помощью анионообменной колонки. Обычно используются спектрофотометрические и электрохимические детекторы, а также импульсные амперометрические детекторы, которые, как правило, оборудованы золотом, серебром, платиной и стекло-углеродными электродами [24,25].

В дальнейшем объединение селективной ионной хроматографии и тандемного масс-спектрометрического детектора позволило разработать быстрый и надежный метод определения йода в диапазоне концентраций 1,7-170 мкг/л, который позволяет анализировать до 75 образцов в день, без необходимости предварительной очистки мочи. При этом в физиологическом диапазоне концентраций йодид аниона аналитический ответ был линейным [29].

К сожалению, хроматографические методы не являются достаточно чувствительными, чтобы измерить все виды йода, в том числе органический йод в биологических образцах [30]. Предварительная окислительная обработка биологических материалов ограничивает применение описанных способов, так как йодид анион и IO_3^- могут в кислой среде переходить в I^2 . Для того чтобы проанализировать органические формы йода в том же образце, хроматографию используют совместно с масс-спектроскопией [26,27,30]. Более того, соединение высокоэффективной хроматографии с масс-спектроскопическими детекторами значительно увеличивает чувствительность при одновременном снижении к абсолютному минимуму возможного влияния матрицы биологического образца. Наиболее простой хроматографический метод для рутинного анализа йодида в моче был разработан Odink et al., который и послужил основой для последующих популяционных исследований [29]. Йодид анион был отделен с помощью ион-парной хроматографии с обращенной фазой и обнаружен электрохимическим методом с помощью детектора, снабженного серебряным электродом. Коэффициент вариации одного анализа йодида в обобщенном образце мочи при концентрации 530 нмоль/л был равен 7,6%. Предел обнаружения составлял 0,06 мкмоль/л, извлечение добавленного в мочу йодида аниона – $96 \pm 7\%$ [29].

Таким образом, можно заключить, что существует много аналитических методов, доступных для обнаружения и измерения йода и его различных видов в сложных биологических матрицах. К сожалению, не существует идеального метода, который будет точным, чувствительным, дешевым и быстрым.

Из вышеизложенного видно, что для достижения более низких пределов обнаружения хроматографические методы могут быть соединены с другими более сложными методами (например, масс-спектрометрия). С другой стороны, ручной метод с использованием персульфата аммония может быть применен в любой обычной клинической лаборатории для анализа йода в моче. Хотя эти два метода имеют свои собственные ограничения, связанные главным образом с предварительной обработкой анализируемого биологического образца, обычно требующей много времени, литературные данные показывают непрерывный прогресс в поиске лучших спектрофотометрических и хроматографических условий определения йода в биоматериале. Еще одним преимуществом описанных методов

является возможность обрабатывать большое количество образцов с высокой точностью и с минимальными затратами времени.

Подводя итог, можно заключить, что будущие направления в разработке методов определения йода в биоматериале лежат скорее в упрощении методик и их обширной доступности, а не в тенденции к снижению предела обнаружения. При этом в основе новейших методов лежат уже существующие и наиболее распространенные методологии, использованные в основном для определения йодид аниона в моче и крови.

Поступила 26.10.16

Կենսաբանական հեղուկներում յոդի որոշման մեթոդների համեմատական վերլուծություն

Ա. Վ Գինոսյան, Ա.Ս. Հովհաննիսյան

Աշխատանքում ներկայացված է կենսաբանական հեղուկներում յոդի որոշման ժամանակակից անալիտիկ մեթոդների համեմատական վերլուծությունը: Քննարկվում են ինչպես յոդի ֆարմակոկինետիկական ուսումնասիրելու, այնպես և բնակչության մոտ յոդի անբավարարության որոշման համար կիրառվող մեթոդների առավելություններն ու թերությունները: Արդյունքների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ առավել ծախս-արդյունավետ, զգայուն և ճշգրիտ են մեզի և արյան մեջ յոդի որոշման պոտենցիալական և սպեկտրաֆոտոչափական մեթոդները: Պոտենցիալական մեթոդը՝ յոդ-ընտրողական էլեկտրոդի և կարծրաֆազ մաքրման հետ զուգակցված, առավել նպատակահարմար է կիրառել յոդի ֆարմակոկինետիկայի, իսկ սպեկտրաֆոտոչափական մեթոդը՝ բնակչության մոտ յոդի անբավարարության որոշման համար: Վերջին 10 տարիների ընթացքում վերը նշված մեթոդները կատարելագործվում են՝ դառնալով առավել արդյունավետ: Այս աշխատանքը կարող է որպես ուղեցույց ծառայել կախված հետազոտման նպատակից, յոդի որոշման մեթոդի ընտրության համար:

Comparative analysis of the methods for determining the iodine in biological fluids

A. V. Ginosyan, A. S. Hovhannisyan

An analysis of the latest analytical methods for determination of iodine in biological fluids has been conducted. The article discusses the advantages and

disadvantages of the methods for studying of the iodine pharmacokinetics, as well as the methods used for study of iodine deficiency in population.

The results of the research have shown that the most cost-effective, sensitive and accurate methods for the determination of iodine in urine and blood are the potentiometric and spectrophotometric methods. The potentiometric method using iodine-selective electrode and solid phase extraction is more convenient to study the pharmacokinetics of iodine, and the spectrophotometric method can be used for population-based studies. Appeared in the last 10 years these methods modifications have greatly increased the efficiency of the above mentioned methods. This work could serve as a guideline for selection of the best method for determining the iodine, depending on the study field and purpose.

Литература

1. *Абрамян А.Г., Оганесян А.С.* Исследование фармакокинетики йодид аниона при однократном и многократном применении препаратов «Арменикум» (концентрат) и «Арменикум» (капсулы). *Лекарства и медицина*, 2009, т. 3, 4, с. 60-68.
2. *Абрамян А.Г., Мурадян Р.Е., Казарян А.В., Оганесян А.С.* Фармакокинетика препарата «Арменикум паста для наружного применения». *Вестник МАНЭБ*, 2009, т. 14, 4, вып. 2, с.75-79.
3. *Абрамян А.Г., Оганесян А.С.* Препараты йода и их использование в медицине XXI века. *Мед. наука Армении НАН РА*, 2009, т. XLIX, 4, с. 3-14.
4. *Оганесян А.С.* Фармакокинетика йода. *Вестник МАНЭБ*, 2007, 12, 4(2), с.53-58.
5. *Паносян А.Г., Оганесян А.С., Тиракян М.Р. и др.* Фармакокинетика йодид иона при внутривенном введении препарата «Арменикум» кроликам и добровольцам. В кн.: «Арменикум, экспериментальные исследования», Ереван, 2000, с.33-49.
6. *Abraham G.E., Brownstein D.* Validation of the orthoiodosupplementation program: A rebuttal of Dr. Gaby's editorial on iodine. *The Original Internist*, 2005, 12(4), p. 184-194.
7. *Abraham G.E., Brownstein D., Flechas J.D.* The saliva/serum iodide ratio as an index of sodium/iodide symporter efficiency. *The Original Internist*, 2005, 12(4), p.152-156.
8. *Abraham G.E., Flechas J.D., Hakala J.C.* Measurement of urinary iodide levels by ion-selective electrode: Improved sensitivity and specificity by chromatography on anion-exchange resin. *The Original Internist*, 2004, 11(4), p. 9-32.
9. *Abraham G.E., Flechas J.D., Hakala J.C.* Optimum levels of iodine for greatest mental and physical health. *The Original Internist*, 2002, 9(3), p.5-20.
10. *Abraham G.E., Handal R.C., Hakala J.C.* A simplified procedure for the measurement of urine iodide levels by the ion selective electrode assay in a clinical setting. *The Original Internist*, 2006, 13(3), p.125-135.
11. *Abraham G.E.* Iodine: The universal nutrient. *Townsend Letter*, 2005, 269, p. 85-88.
12. *Abraham G.E.* Serum inorganic iodide levels following ingestion of a tablet form of Lugol solution: Evidence for an enterohepatic circulation of iodine. *The Original Internist*, 2004, 1(3), p. 29-34.
13. *Abrahamyan H., Hovhannisyan A., Gabrielyan E.* The determination and quantification of iodide ion in drug form by high performance capillary electrophoresis. 16th International symposium on Capillary Electroseparation techniques, Aug-Sep 2008, Catania, Italy, p.12.
14. *Afkhami A. & Zarei A. R.* Spectrophotometric determination of periodate and Iodate by a differential kinetic method. *Talanta*, 2011, Vol.53, p. 815-820.
15. *Bilek R., Bednár J., Zamrazil V.* Spectrophotometric determination of urinary iodine by the Sandell-Kolthoff reaction subsequent to dry alkaline ashing. Results from the Czech Republic in the period 1994-2002. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2005, 43(6), p.573-580.

16. *Błażewicz A., Orlicz-Szczęśna G., Szczęśny P. et al.* A Comparative analytical assessment of Iodides in healthy and pathological human thyroids based on IC-PAD method preceded by microwave digestion. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2011,15, 879 (9-10), p.573-578.
17. *Delange F., de Benoist B., Burgi, H.* Determining median urinary iodine concentration that indicates adequate iodine intake at population level. *Bull. World Health Organ.*, 2002, 80, p.633-666.
18. *Gottardi W.* Redox-potentiometric/titrimetric analysis of aqueous iodine solutions *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1998,362, p.263-269.
19. *Gurkan R., Bicer N., Ozkan M. H., Akcay M.* Determination of trace amounts of Iodide by an inhibition kinetic spectrophotometric method. *Turk. J. Chem.*, 2004, 28, p.181-191.
20. *Hu W., Haddad P. R., Hasebe K., Tanaka, K., Tong P., Khoo C.* Direct determination of bromide, nitrate, and iodide in saline matrixes using electrostatic ion chromatography with an electrolyte as eluent. *Anal. Chem.*, 1999,71, p.1617-1620.
21. *Jooste P.L., Strydom E.* Methods for determination of Iodine in urine and salt. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010,24, p.77-88.
22. *Kandhro G. A., Gul Kazi T. G., Sirajuddin Kazi et al.* Comparison of urinary Iodide determination in female thyroid patients by two techniques. *Russian Journal of Electrochemistry*, 2011, 47(12), p. 1355-1362.
23. *Kamavisdar A., Patel R. M.* Flow injection spectrophotometric determination of Iodide in environmental samples. *Microchimica Acta*, 2002, 140(1-2), p.119-124.
24. *Liang L., Cai Y., Mou S., Cheng J.* Comparisons of disposable and conventional silver working electrode for the determination of iodide using high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Journal of Chromatography*, 2005,1085, p.37-41.
25. *Lin F.-M., Wu H.-L., Kou H.-S., Lin S.-J.* Highly Sensitive analysis of iodide anion in seaweed as pentafluorophenoxyethyl derivative by capillary gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 2003,51, p.867-870.
26. *Lin L., Chen G., Chen Y.* Determination of iodine and its species in plant samples using ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011,29, p. 662-666.
27. *Mani D., Gnaneshwar Rao T., Balaram V. et al.* Rapid determination of iodine in soils using inductively coupled plasma mass spectrometry. *Current Science*, 2007, 93, p.1219-1221.
28. *Niedobová E., Machát J., Otruba V., Kanicky V.* Vapour generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry in determination of total iodine in milk. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 2005,20, p.945-949.
29. *Odink J., Bogaards J.J.P., Sandman H. et al.* Excretion of iodide in 24-h urine as determined by ion-pair reversed-phase liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography Biomedical Sciences and Applications*, 1988, 431, p.309-316.
30. *Schwehr K. A., Santschi P. H.* Sensitive determination of iodine species, including organo-iodine, for freshwater and seawater samples using high performance liquid chromatography and spectrophotometric detection. *Anal. Chim. Acta*, 2003,482, p. 59-71.
31. *Teng W., Shan Z., Teng X.* Effect of an increased iodine intake on thyroid. In: *Comprehensive Handbook of Iodine*. Preedy (Ed.), Elsevier, USA, 2009, p. 1213-1220.
32. *Tinggi U., Schoendorfer N., Davies P. S. W., Scheelings P., Olszowy H.* Determination of iodine in selected foods and diets by inductively coupled plasma- mass spectrometry. *Pure Appl. Chem.*, 2012,84, 2, p. 291-299.