

Iodine determination in hair with acid digestion and microplate reading procedure

Somayeh Shokri¹, Azadeh Rasooli¹,
Mehdi Hedayati^{2*}

1. Former M. Sc. Student, Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

2. Ph. D. Candidate of Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran

3. Associate Professor, Cellular & Molecular Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: Dec. 28, 2016 - Accepted: May 14, 2018)

سنجش میزان ید در موی سر به روش هضم اسیدی و خوانش میکروپلیتی

سمیه شکری^۱، آزاده رسولی^۱، مهدی هدایتی^{۲*}

۱. کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور واحد تهران شرق، تهران، ایران

۲. دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشگاه پیام نور واحد تهران شرق، تهران، ایران

۳. دانشیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، پژوهشکده علوم غدد

درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۲/۲۴)

Abstract

After iron, iodine deficiency is the most common nutritional deficiency in third world countries. Today, the urinary iodine which indicates the recent iodine status is the only biological indicator for iodine. Therefore, providing of a long-term indicator for assessing of iodine status is essential. In this study, by using the well-known Sandell-Kolthoff reaction the iodine levels were simultaneously measured in hair and urine of 50 samples. The precision, accuracy, and sensitivity of the assay were also evaluated. Acid digestion was sufficiently accurate. Intra and inter-assay coefficients were less than 10 and 12 percent, respectively. Based on the recovery and recycling tests, the recovery percentage of the applied method was 90 to 110 percent which indicates an acceptable accuracy for this study. This method can digest the hair samples in an acidic environment and has enough efficiency to remove interfering and iodine releasing agents in the samples. Moreover, this method has sufficiently the precision, accuracy, and sensitivity required for the measurement of iodine in the hair samples. In addition, using of acidic digestion, reduces the risk of alkaline medium for digestion and the time of long-term ashing methods. It also increases the safety of the used method.

Keywords: hair, iodine, acid digestion, Sandell-Kolthoff.

چکیده

امروزه، کمبود ید پس از آهن شایع‌ترین کمبود تغذیه‌ای در کشورهای جهان سوم می‌باشد. در حال حاضر تنها شاخص بیولوژیکی ید، میزان ید در ادرار است، که نشان دهنده وضعیت دریافت اخیر ید می‌باشد و شاخصی برای ارزیابی طولانی مدت ید وجود ندارد. به همین دلیل شناسایی و طراحی یک شاخص بیولوژیکی جهت ارزیابی بلند مدت وضعیت ید ضرورت دارد. در این مطالعه، از اندازه‌گیری میزان ید در نمونه موی سر با استفاده از واکنش معروف سندل کالتف بروی ۵۰ نمونه موی سر و نمونه ادرار افراد بطور همزمان بهره گرفته شد. دقت، صحت و حساسیت روش سنجش به روش هضم اسیدی مورد بررسی قرار گرفت. روش هضم اسیدی از دقت کافی برخوردار بود. درصد ضرایب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب کمتر از ۱۰ و ۱۲ درصد محاسبه شد. بر اساس آزمون‌های باز یافت و توازی، درصد باز-یافت در محدوده ۹۰ تا ۱۱۰ درصد بود، که حاکی از صحت قابل قبول روش مورد مطالعه می‌باشد. این روش قادر به هضم نمونه موی سر در محیط اسیدی می‌باشد، و کارایی لازم برای حذف مواد مداخله گر و آزاد کننده ید را در نمونه‌های مذکور دارد. بعلاوه از دقت، صحت و حساسیت لازم برای اندازه‌گیری ید در نمونه مو برخوردار است. در ضمن استفاده از محیط اسیدی، خطر ناشی از هضم در محیط‌های قلیایی و زمان طولانی روش‌های خاکستر سازی را کاهش داده، ایمنی روش را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: موی سر، ید، هضم اسیدی، روش سندل کالتف.

مقدمه

یُد یک ماده معدنی کم نیاز و ضروری است، یکی از اجزاء مورد نیاز برای عملکرد صحیح غده تیروئید می‌باشد. این عنصر در ساختمان هورمون‌های تیروکسین و تری یدو تیرونین یافت می‌شود. هورمون‌های تیروئیدی اعمال متابولیکی مختلفی را به عهده دارند، که شامل تأثیر بر سوخت‌وساز چربی‌ها، کربوهیدرات و پروتئین، رشد و تولید مثل، مصرف اکسیژن و تنظیم میزان متابولیسم پایه است. کمبود ید سبب کمبود هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. این امر باعث اختلال در تکامل جسمی و ذهنی در کودکان و گواتر در بزرگسالان می‌گردد (Salarkia et al., 2003). کمبود ید یک مشکل جهانی است. مطالعه‌ای نشان می‌دهد که ۳۰٪ از جمعیت جهان در مناطقی با کمبود ید زندگی می‌کنند. کمبود ید خفیف در زنان ممکن است باعث اختلال توجه و بیش‌فعالی (ADHD) در کودکان آنها گردد (Azizi et al., 2003). خوشبختانه کمبود ید نه تنها قابل پیشگیری ترین علت عقب افتادگی ذهنی محسوب می‌شود، بلکه برطرف نمودن آن نیز از لحاظ فن آوری ساده می‌باشد (Furnee et al., 1997). روش‌های متعددی برای سنجش میزان ید گزارش شده است. کروماتوگرافی تبادل یونی، فعال‌سازی سریع نوترونی، الکترودهای یون گزین، فلورسانس اشعه ایکس، کروماتوگرافی گاز مایع، طیف‌سنجی جرمی، فعال سازی رادیواکتیوی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و جذب اتمی غیرمستقیم از مهمترین این روش‌ها هستند. همه روش‌های فوق نیازمند آماده سازی نمونه می‌باشند. این روش‌ها که به تجزیه دستگاهی معروفند، دارای محدودیت‌هایی از قبیل هزینه بالای خرید دستگاه‌ها، هزینه بالای تأمین و نگهداری دستگاه‌ها، نیاز به کارکنان مجرب و متخصص، هزینه پرسنلی بالا و هزینه مواد مصرفی بالا به همراه سرعت اندازه‌گیری پایین هستند و برای مراکز کوچک و یا برنامه‌های بزرگ مانند برنامه‌های پایش ادواری

مناسب نیستند. البته نباید فراموش کرد که روش‌های دستگاهی به‌ویژه طیف‌سنجی جرمی که بیشتر با روش‌هایی مانند غربال مولکولی، تبادل یونی، فعال‌سازی نوترونی، رقیق‌سازی ایزوتوپی و یا سایر روش‌ها جفت می‌شوند، از درستی بالایی برخوردار هستند و به عنوان روش مرجع در نظر قرار می‌گیرند (Garry et al., 1973; Benotti et al., 1965; Ohashi et al., 2000; Dunn et al., 1998; Rendl et al., 1998; Yamaki et al., 2000; Ristic-Medic et al., 2009).

هنوز واکنش ساده و کارآمد سندل کالتوف، یکی از مناسب‌ترین روش‌های سنجش ید محسوب می‌شود. نقش کاتالیزوری ید در واکنش تبدیل سربک (+۴) زرد رنگ به سروی (+۳) بیرنگ مبنای این اندازه‌گیری‌ها می‌باشد (Sandell & Kolthoff, 1937). از آن‌جاکه بیش از ۹۰٪ ید دریافتی از طرق ادرار دفع می‌گردد، سنجش ید در نمونه ادرار شاخص خوبی برای تعیین وضعیت ید دریافتی است (May et al., 1997). اما میزان دفع ید در ادرار در روزهای مختلف و حتی طی یک روز متغیر می‌باشد. بنابر این ما نیاز به بررسی طولانی مدت میزان ید در بدن داریم. چرا که سنجش ید در ادرار فقط از دریافت اخیر ید توسط فرد آگاهی می‌دهد، در حالی‌که سنجش ید در موی سر بطور متوسط اطلاع چند ماهه از وضعیت ید در بدن را بدن‌بال خواهد داشت (Berislav et al., 2014). بنابراین هدف از این مطالعه فراهم کردن روشی برای هضم نمونه موی سر، تعیین حساسیت، دقت، صحت روش بکار گرفته برای سنجش ید در موی سر است.

مواد و روش‌ها

دستگاه‌ها و تجهیزات

دستگاه حرارت‌دهنده الکتریکی یا هیئینگ بلاک (شرکت ابی‌سی، آلمان)، ترازوی آنالیتیک (سارتریوس، آلمان)، دستگاه پلیت ریدر (سان رایز، تکن آ ۵۰۸۲،

آب مقطر، محلول غلیظ ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استاندارد ید تهیه شد و سپس محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ میکروگرم در لیتر از آن تهیه شد.

نمونه مورد بررسی

تعداد ۱۰۰ نمونه موی سر مورد نیاز به حجم ۲۰ میلی‌گرم از مراجعین داوطلبی که برای بررسی میزان ید، به پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی مراجعه کرده بودند اخذ شد.

بهینه‌سازی شرایط هضم اسیدی

شرایط بهینه (زمان، دما) بر اساس آزمون باز یافت در ۱۰ نمونه به روش ذیل تعیین شد:

به‌منظور هضم، نمونه‌ها پس از اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر از معرف هضم‌کننده به ۲۰ میلی‌گرم نمونه مو، یک ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. نمونه‌ها سپس در زیر هود مجهز به تله پرکلریک تا رسیدن به دمای اتاق خنک شدند، به مقدار ۳/۵ میلی‌لیتر اسید آرسنیک به نمونه‌ها اضافه و ۱۵ دقیقه انکوبه شد، و سپس مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر از نمونه هضم‌شده، به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ چاهکی پلی استیرنی (ساخت کمپانی نانک، دانمارک) انتقال داده شد، و به همه چاهک‌ها ۵۰ میکرو لیتر محلول سربک افزوده شد. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، جذب نوری چاهک‌ها توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ 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 ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در لیتر استفاده شد. با رسم لگاریتم میانگین جذب نوری استانداردها روی محور عمودی و غلظت استانداردها

اتریش) و سمپلر چند شاخه (کمپانی اپندرف آلمان) برای انجام این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

مواد شیمیایی

همه مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا شامل کلرید سدیم، یدات پتاسیم، تری اکسید آرسنیک، کلرات پتاسیم، اسید پرکلریک ۷۲٪، سریم سولفات تترا آمونیوم و اسید سولفوریک از شرکت سیگما آلدريج آلمان تهیه شدند. آب مقطر دیونیزه با دستگاه اسمز معکوس (کمپانی OES آمریکا مدل SDL8L) تهیه شد. میکروپلیت های ۹۶ چاهکی الایزا نیز از کمپانی نانک دانمارک تهیه شد.

محلول معرف هضم اسیدی

برای تهیه اسید کلریک میزان ۵۰۰ گرم کلرات پتاسیم در ۹۱۰ لیتر آب مقطر حل شد و یک ساعت در حمام آب جوش حرارت داده شد و سپس ۳۷۵ میلی لیتر اسید پرکلریک آهسته با هم زدن مداوم افزوده شد. محلول فوق یک شبانه روز در دمای یخچال نگهداری و سپس اسیدکلریک از رسوب پرکلرات پتاسیم به کمک کاغذ صافی جدا شد و در دمای ۴ درجه نگهداری شد.

محلول اسید آرسنیک

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

محلول سولفات آمونیم سربک

محلول فوق با انحلال ۶ گرم سولفات آمونیم سربک در ۷۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۷۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ تهیه شد.

استانداردهای ید

ابتدا با انحلال ۱/۶۸۶ گرم یدات پتاسیم در یک لیتر

سنجش میزان یُد پس از افزایش استانداردهای مختلف به ۶ نمونه تصادفی با تکرار ۳ تایی مبنای آزمون باز یافت قرار گرفت. افزایش استاندارد صفر به‌عنوان شاهد استفاده شد.

سنجش میزان یُد در ۶ نمونه با غلظت‌های پایین، متوسط و بالا پس از رقیق سازی متوالی با تکرار سه تایی اساس آزمون توازی قرار گرفت.

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS 20 تجزیه و تحلیل شد. متغیرهای کمی به‌صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شدند.

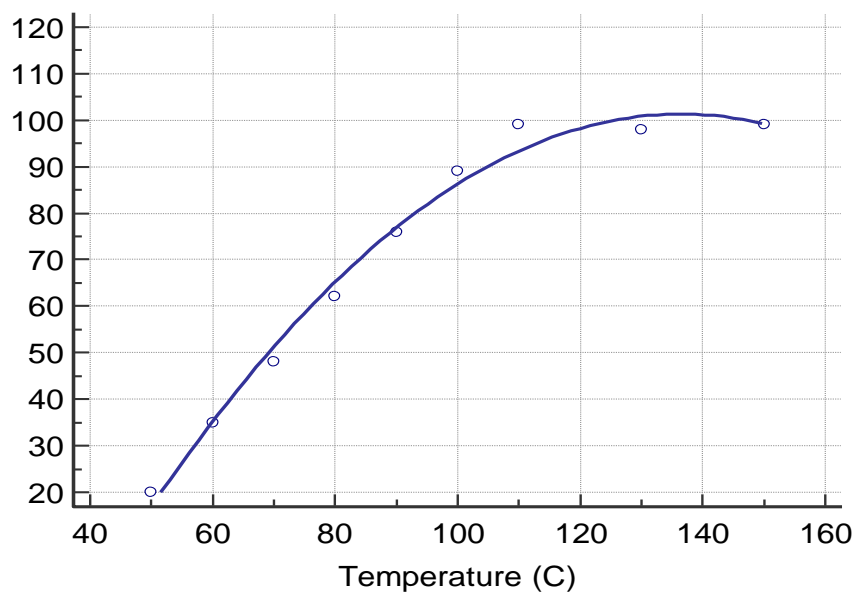
نتایج

یافته‌های بهینه‌سازی دما و زمان هضم اسیدی در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. باز یافت میزان یُد در نمونه‌های مو نشان داد، که زمان یک ساعت دمای ۱۱۰ درجه در اسید پرکلریک شرایط بهینه محسوب می‌شود.

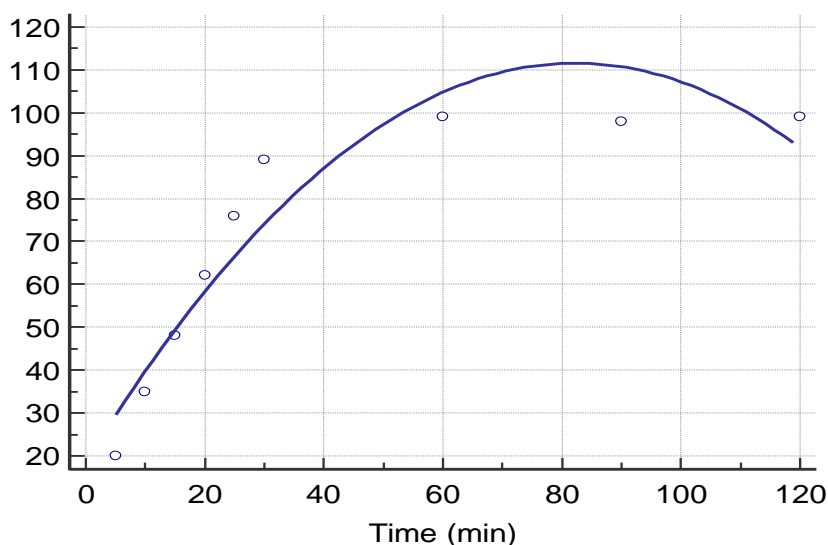
روی محور افقی، منحنی استاندارد رسم شد. غلظت یُد در نمونه‌های مو با رگرسیون خطی منحنی فوق محاسبه گردید. آب مقطر دو بار تقطیر دیونیزه به عنوان استاندارد صفر در نظر گرفته شد.

غلظت مربوط به میانگین سیگنال استاندارد صفر با ۱۰ بار تکرار به علاوه دو برابر انحراف استاندارد آن، مبنای تعیین حساسیت روش قرار گرفت. از رقیق سازی متوالی یک نمونه موی هضم شده نیز برای تایید بهره گرفته شد. از آب مقطر دو بار تقطیر دیونیزه برای رقیق سازی استفاده شد.

به منظور ارزیابی اعتبار روش، دقت، درستی و حساسیت آن مورد بررسی قرار گرفت. دقت روش بر اساس آزمون‌های درون‌سنجش و برون‌سنجش نمونه‌هایی با غلظت پایین، متوسط و بالا با ۱۰ تکرار درون آزمونی و ۸ تکرار برون آزمونی، محاسبه میانگین، انحراف استاندارد و درصد ضریب تغییرات بررسی شدند. درستی روش سنجش نیز به کمک آزمون‌های باز یافت (مستقیم و غیر مستقیم) و آزمون توازی بررسی شد.



نمودار ۱. نتیجه بهینه‌سازی دمای هضم اسیدی نمونه مو برای سنجش یُد



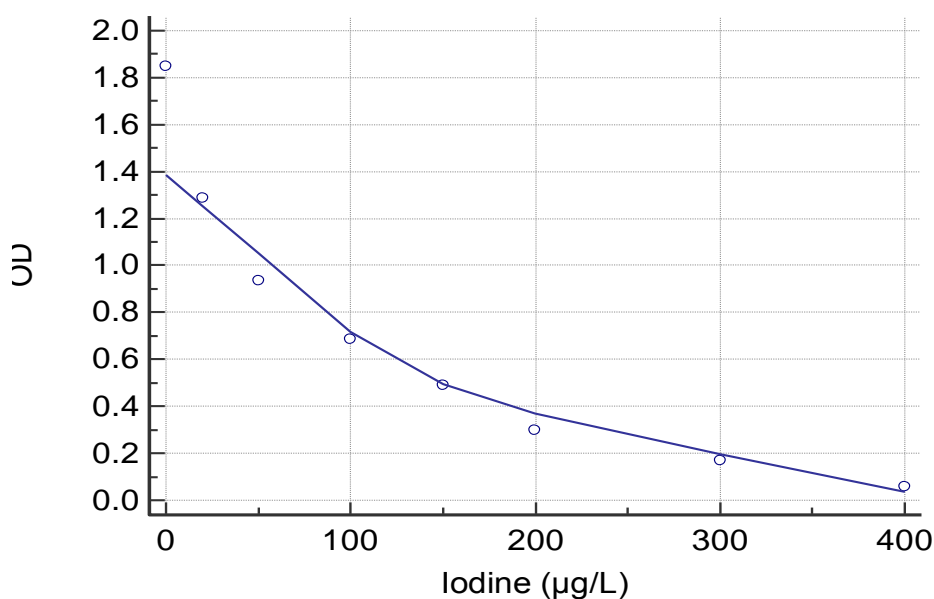
نمودار ۲. نتیجه بهینه‌سازی زمان هضم اسیدی نمونه مو برای سنجش ید

غلظت‌های مختلف از ۸/۶ تا ۹/۴ درصد و در مورد ضریب تغییرات برون‌سنجش ۹/۹ تا ۱۱/۵ درصد به دست آمد.

همان‌طور که اشاره شد، حساسیت روش بر اساس غلظت مرتبط با میانگین سیگنال استاندارد صفر به علاوه دو برابر انحراف استاندارد، با میانگین جذب نوری ۱/۵۶۲ و انحراف استاندارد ۰/۱۱۵ معادل ۰/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر یا ۵ میکروگرم در لیتر محاسبه شد.

نمونه‌ای از منحنی استاندارد با ۱۰ بار تکرار در نمودار ۳ آورده شده است. همان‌گونه که در نمودار مشخص است محدوده عملکرد منحنی استاندارد ۲ تا ۴۰ میکروگرم در دسی‌لیتر معادل ۲۰ تا ۴۰۰ میکروگرم در لیتر است.

در بررسی دقت روش، یافته‌های آزمون‌های درون‌سنجش و برون‌سنجش بر اساس جدول ۱، در خصوص دقت درون آزمونی ضریب تغییرات در



نمودار ۳. یافته‌های مربوط به تنظیم منحنی استاندارد سنجش ید در مو به روش هضم اسیدی

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه فقدان یُد از شایعترین کمبودهای غذایی در دنیا است، و در کشورهای توسعه نیافته جهان سوم و همینطور کشورهای توسعه یافته اروپایی مانند انگلستان، ایتالیا و آلمان مشاهده می‌شود. در جهان ۲/۲ میلیارد نفر یعنی ۳۸٪ از کل جمعیت جهان در مناطقی زندگی می‌کنند که خطر کمبود یُد وجود دارد. کمبود یُد تهدیدی برای رشد اجتماعی و اقتصادی بسیاری از کشورها به حساب می‌آید، به همین دلیل، آزمون هایی برای ارزیابی سطح یُد در منابع مختلف از جمله مواد غذایی (Mesko et al., 2010)، نمک (Azizi et al., 2001)، در نمونه‌های بیولوژیکی (Nikolic et al., 2005)، به‌ویژه شیر (Hedayati et al., 2007)، سرم (Azizi et al., 2002) و ادرار (Hedayati et al., 2011) باید مشخص گردد، همچنین برای سنجش آن در حد وسیع، به روش‌هایی ساده و ارزان نیاز داریم (O'Brien, 2013). مناسبترین روش که در مورد اندازه‌گیری یُد در مو مورد پذیرش همگان قرار گرفته است، روش اسپکتروفوتومتری است. در این روش واکنش ساده و کارآمد سندل - کالتف مبنای سنجش می‌باشد (Berislav et al., 2014).

با توجه به نقش کاتالیزوری یُد در این واکنش حتی مقادیر در حد نانوگرم (10^{-9}) از یُد قابل اندازه‌گیری می‌باشد، و حساسیت روش بسیار قابل قبول می‌باشد. به دلیل ویژگی و حساسیت بالا، این واکنش مبنای بسیاری از روش‌های اندازه‌گیری یُد قرار گرفته است. در حال حاضر، سنجش یُد در نمونه ادرار شاخص خوبی برای تعیین وضعیت یُد دریافتی است، اما ما به شاخص بلند مدتی برای تعیین وضعیت یُد نیاز داریم. به نظر می‌رسد، بافت مو شاخص بیولوژیکی معتبر جهت ارزیابی بلند مدت وضعیت یُد می‌باشد. نتایج ما نشان می‌دهد، که روش هضم اسیدی اولین روش سنجش یُد در مو محسوب

داده‌های مربوط به بررسی درستی یافته‌ها، در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده است. بازیافت روش مستقیم ۹۴/۲ تا ۱۰۹/۰ و باز یافت روش غیر مستقیم ۸/۱ تا ۲۹/۰ محاسبه شد، آزمون توازی تا رقت ۳۲:۱ بررسی شد، که تا ۱۶ برابر رقت نتایج قابل قبولی به دست آمد.

جدول ۱. یافته‌های حاصل از بررسی ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی با تکرار ۱۰ تایی سنجش یُد در مو به

روش هضم اسیدی		
غلظت	میانگین	درصد ضریب تغییرات
درون سنجش		
پایین	۱/۵	۸/۶
متوسط	۳/۸	۹/۱
بالا	۹/۶	۹/۴
برون سنجش		
پایین	۱/۷	۹/۹
متوسط	۳/۶	۱۰/۸
بالا	۹/۵	۱۱/۵

جدول ۲. نتایج حاصل از آزمون بازیافت مستقیم (افزودن استاندارد ۱۵ میکروگرم در دسی لیتر) برای تعیین صحت روش

سنجش یُد در مو به روش هضم اسیدی			
غلظت نمونه	مورد انتظار	اندازه‌گیری شده	درصد بازیافت
۵/۸	۱۰/۴	۹/۸	۹۴/۲
۱۶/۳	۱۵/۶	۱۶/۸	۱۰۷/۶
۳۱/۲	۲۳/۱	۲۵/۲	۱۰۹/۰

جدول ۳. نتایج حاصل از آزمون توازی برای تعیین صحت

روش سنجش یُد در مو به روش هضم اسیدی					
نمونه	رقت	مورد انتظار	اندازه‌گیری شده	درصد	
۱	۱	۳۸	۳۸	۱۰۰	
۲	۲	۱۹	۱۸/۷۰	۹۸/۴	
۳	۴	۹/۵۰	۹/۳۱	۹۸/۰	
۴	۸	۴/۷۵	۴/۹۲	۱۰۳/۵	
۵	۱۶	۲/۲۷	۲/۱۲	۹۳/۴	
۶	۳۲				

۴۰ میکروگرم در دسی‌لیتر می‌باشد (نمودار ۳). حساسیت روش مذکور در حد ۰/۵ میکروگرم در دسی‌لیتر می‌باشد. روش هضم اسیدی از دقت کافی برخوردار بوده و درصد ضرایب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب کمتر از ۱۰ و ۱۲ درصد می‌باشد (جدول ۱). بر اساس آزمون‌های باز یافت (جدول ۲) و توازی (جدول ۳) درصد باز یافت این روش در محدوده ۹۰ تا ۱۱۰ بود که حاکی از صحت قابل قبول روش مورد مطالعه می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

روش هضم اسیدی قادر به هضم نمونه‌های مو در محیط اسیدی حاوی کلریک اسید می‌باشد و کارایی لازم برای حذف عوامل مداخله‌گر و آزاد سازی ید موجود در نمونه‌های مذکور را دارد. به علاوه از دقت، صحت و حساسیت لازم برای اندازه‌گیری ید در نمونه مو برخوردار است. در ضمن با توجه به استفاده از محیط اسیدی برای این روش، خطر ناشی از هضم در محیط‌های قلیایی و زمان طولانی روش‌های خاکسترسازی کاهش یافته و ایمنی روش افزایش می‌یابد.

می‌گردد. که در این مطالعه فقط از یک ساعت هضم در دمای ۱۱۰ درجه بهره گرفته شد (نمودارهای ۱ و ۲). این روش از کارایی لازم، دقت و صحت کافی برای سنجش میزان ید برخوردار است. مطالعات دیگر نیز روش هضم اسیدی را به عنوان بهترین روش برای سنجش ید ادرار و شیر مورد تایید قرار می‌دهند (Hedayati *et al.*, 2011; 2007). اندازه‌گیری ید در مو برای سالیان زیادی مورد بحث بوده است، چرا که عوامل بسیاری در اندازه‌گیری آن دخیل هستند، از جمله آلودگی‌های زیست‌محیطی و صنعتی، نوع شامپوی مورد استفاده در زمان آنالیز، نوع روش مورد استفاده، شرایط آب و هوایی و زمان استفاده از مو را ۰/۴۹۹ میکروگرم (۰/۴۸۲) و ۰/۵۰۸ میکروگرم برای مردان و زنان) به دست آوردند، که نمایانگر آن است که با جنسیت ارتباطی ندارد و کمبود واضح ید زمانی اتفاق می‌افتد، که غلظت ید مو کمتر از ۰/۱ تا ۰/۱۵ میکروگرم بر گرم است (Momcilovic & Berislav, 2014)، نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد، دامنه عملکرد استاندارد روش مورد مطالعه از ۲ تا

REFERENCES

- Azizi, F.; Aminorroya, A.; Hedayati, M.; Rezvani, H.; Amini, M.; Mirmiran, P.; (2003) Urinary iodine excretion in pregnant women residing in areas with adequate iodine intake. *Public Health Nutr*; 6(1): 95-8.
- Azizi, F.; Mirmiran, P.; Sheikholeslam, R.; Hedayati, M.; Rastmanesh, R.; (2002). The relation between serum ferritin and goiter, urinary iodine and thyroid hormone concentration. *Int J Vitam Nutr Res.*; 72(5): 296-9.
- Azizi, F.; Rahmani, M.; Allahverdian, S.; Hedayati, M.; (2001). Effects of salted food consumption on urinary iodine and thyroid function tests in two provinces in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J.*; 7(1-2): 115-20.
- Benotti, J.; Benotti, N.; Pino, S.; Gardyna, H.; (1965). Determination of total iodine in urine, stool, diets, and tissue. *Clin Chem.*; 11: 932-6.
- Momčilović, B.; Prejac, J.; Višnjević, V.; Skalnaya, M.G.; Mimica, N.; Drmić, S.; Skalny, A.V.; (2014). Hair iodine for human iodine status assessment. *Thyroid*; 24(6): 1018-1026.
- Dunn, J.T.; Myers, H.E.; Dunn, A.D.; (1998). Simple methods for assessing urinary iodine, including preliminary description of a new rapid technique ("Fast B"). *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*; 106 Suppl 3: S10-2.
- Furnee, C.A.; (1997). Prevention and control of iodine deficiency: a review

- of a study on the effectiveness of oral iodized oil in Malawi. *Eur J Clin Nutr.*; 51(4): S9-10.
- Garry, P.J.; Lashley, D.W.; Owen, G.M.; (1973). Automated measurement of urinary iodine. *Clin Chem.*; 19: 950-3.
- Hedayati, M.; Khazan, M.; Yaghmaee, P.; Yeghaneh, M.Z.; Behdadfar, L.; Daneshpour, M.S.; (2011). Rapid microwave digestion and microplate reading format method for urinary iodine determination. *Clin Chem Lab Med.*; 49(2): 281-4.
- Hedayati, M.; Khazan, M.; Yaghmaee, P.; Yeghaneh, M.Z.; Behdadfar, L.; Daneshpour, M.S.; (2011). Rapid microwave digestion and microplate reading format method for urinary iodine determination. *Clin Chem Lab Med.*; 49(2): 281-4.
- Hedayati, M.; Ordoorkhani, A.; Daneshpour, M.S.; Azizi, F.; (2007). Rapid acid digestion and simple microplate method for milk iodine determination. *J Clin Lab Anal.*; 21(5): 286-92.
- Hedayati, M.L.; Ordoorkhani, A.; Daneshpour, M.S.; Azizi, F.; (2007). Rapid acid digestion and simple microplate method for milk iodine determination. *J Clin Lab Anal.*; 21(5): 286-92.
- May, S.L.; May, W.A.; Bourdoux, P.P.; Pino, S.; Sullivan, K.M.; Maberly, G.F.; (1997). Validation of a simple, manual urinary iodine method for estimating the prevalence of iodine deficiency disorders, and interlaboratory comparison with other methods. *Am J Clin Nutr.*; 65: 1441-5.
- Mesko, M.F.; Mello, P.A.; Bizzi, C.A.; Dressler, V.L.; Knapp, G.; Flores, E.M.; (2010). Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion. *Anal Bioanal Chem.*; 398(2): 1125-31.
- Momcilovic, Berislav.; (2014). Hair Iodine for Human Iodine Status Assessment. *Thyroid.*; 24: 1018-1026.
- Nikolic, S.D.; Mutic, J.J.; Lolic, A.D.; Manojlovic, D.D.; (2005). Sensitive flow-injection amperometric detection of iodide using Mn^{3+} and As^{3+} . *Anal Sci.*; 21(5): 525-9.
- O'Brien, B.; (2013). Iodine concentrations in milk. *Irish J Agr Food Res.*; 52: 209-216.
- Ohashi, T.; Yamaki, M.; Pandav, C.S.; Karmarkar, M.G.; Irie, M.; (2000). Simple microplate method for determination of urinary iodine. *Clin Chem.*; 46: 529-36.
- Rendl, J.; Bier, D.; Groh, T.; Reiners, C.; (1998). Rapid urinary iodide test. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*; 106(3): S12-6.
- Ristic-Medic, D.; Piskackova, Z.; Hooper, L.; Ruprich, J.; Casgrain, A.; Ashton, K.; *et al.*; (2009). Methods of assessment of iodine status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr.*; 89: S2052-69.
- Salarkia, N.; Hedayati, M.; Mirmiran, P.; Kimiagar, M.; Azizi, F.; (2003). Evaluation of the impact of an iodine supplementation programme on severely iodine-deficient schoolchildren with hypothyroidism. *Public Health Nutr.*; 6(6):529-33.
- Sandell, E.B.; Kolthoff, I.M.; (1937). Micro determination of iodine by a catalytic method. *Microchemica Acta.*; 1: 9-25.
- Yamaki, M.; Pandav, C.S.; Karmarkar, M.G.; Irie, M.; Ohashi, T.; (2000). Simple microplate method for determination of urinary iodine. *Clin Chem.*; 46: 529-36.