

MICHAŁ DROBNIK, TERESA LATOUR

## OZNACZANIE JODKÓW W SOLACH – WALIDACJA METOD

## DETERMINATION OF IODIDES IN SALTS – VALIDATION OF METHODS

Zakład Tworzyw Uzdrawiskowych, Państwowy Zakład Higieny  
60-821 Poznań, ul. Słowackiego 8/10  
Kierownik: dr T. Latour

*Zmodyfikowano zawartą w Polskiej Normie metodę spektrofotometryczną oznaczania jodku potasowego w soli. Przeprowadzono walidację metody określając jej precyzję, dokładność oraz liniowość.*

## WSTĘP

Jod należy do mikroelementów niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania ustroju. Niedobór tego pierwiastka w organizmie wywołuje zwyrodnienie tarczycy, objawiające się wyraźnym jej przerostem (tzw. wole) oraz niedorozwój fizyczny i umysłowy (kretynizm) [8]. Aby zapobiec schorzeniom na tle niedoboru jodu, dodaje się ten pierwiastek m.in. do pokarmów. W Polsce Zarządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 24 lipca 1996 r. nakłada obowiązek wprowadzania do obrotu wyłącznie soli spożywczej wzbogaconej w jodek potasowy.

Oznaczanie jodków w soli spożywczej jodowanej oraz w solach leczniczych jodkowo-bromkowych, wiąże się z wieloma trudnościami analitycznymi, spowodowanymi głównie wpływem nadmiaru chlorku sodu, w przypadku soli leczniczej – również bromków.

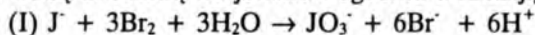
Celem wykonanych badań było opracowanie stosunkowo prostej metody analitycznej umożliwiającej ilościowe oznaczanie jodków w tych solach. Metoda powinna być przydatna do oznaczeń kontrolnych w procesie jodowania soli, równocześnie musi zapewniać odpowiednią dokładność i powtarzalność wyników, a także bezpieczne warunki pracy analityka. W niniejszej pracy przedstawiono opracowane procedury analityczne będące modyfikacją metody spektrofotometrycznej podanej w Polskiej Normie [10].

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

**Metoda ekstrakcyjna z użyciem dwusiarczku węgla**

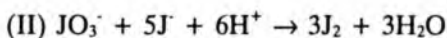
Zasada metody:

Jodki utlenia się wodą bromową do jodanów zgodnie z reakcją



Nadmiar bromu usuwa się za pomocą fenolu. Następnie dodaje się w nadmiarze

KJ.



Wydzielony wolny jod ekstrahuje się dwusiarczkiem węgla i mierzy absorbancję fazy organicznej.

Odczynniki i roztwory:

- a) Jodek potasowy cz.d.a. – nie zawierający wolnego jodu

Roztwór podstawowy:  $1 \text{ cm}^3 = 10 \text{ mgJ}^-$

Odważyć 1,3102g KJ i rozpuścić w wodzie destylowanej, w kolbie miarowej o pojemności  $100 \text{ cm}^3$ .

Roztwór roboczy:  $1 \text{ cm}^3 = 0,1 \text{ mgJ}^-$  otrzymuje się przez rozcieńczenie roztworu podstawowego za pomocą 20%-wego NaCl. Roztwór ten powinien być przygotowany *ex tempore* dla każdej serii oznaczeń.

- b) Kwas solny cz.d.a. – roztwór 10% (v/v), c) Woda bromowa – nasycony wodny roztwór  $\text{Br}_2$ , d) Fenol – wodny roztwór 5%, e) Kwas ortofosforowy cz.d.a. – roztwór 25% (v/v), f) Chlorek sodowy cz.d.a. – wodny roztwór 20% (m/v) g) Dwusiarek węgla cz.d.a.

Przygotowanie krzywej kalibracyjnej

Do kolbek stożkowych o poj.  $200 \text{ cm}^3$  z doszlifowanym korkiem, dodawano kolejno: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0;  $5,0 \text{ cm}^3$  roztworu roboczego jodku potasowego. Zawartość kolbek uzupełniano do  $50 \text{ cm}^3$  roztworem chlorku sodowego (f), zakwaszono  $0,5 \text{ cm}^3$  kwasu solnego (b) i dodawano  $2,5 \text{ cm}^3$  wody bromowej (c). Po 10 minutach, nadmiar wody bromowej wiązano  $2,5 \text{ cm}^3$  fenolu (d) i po wymieszaniu pozostawiono na 10 minut. Następnie wprowadzono do kolbek w odstępach 5 min.  $2,5 \text{ cm}^3$  kwasu ortofosforowego (e) i 0,15 g KJ *in subst.* Każdą próbkę po dodaniu KJ odstawiano na 10 min. w ciemne miejsce, po czym zawartość kolby przenoszono ilościowo do rozdzielacza, dodawano  $10 \text{ cm}^3$  dwusiarczku węgla (g) i wytrząsano przez 1 min. Po rozdzieleniu się warstw, dolną warstwę (o barwie czerwono-fioletowej) przenoszono do kuwety o grubości 1 cm. Kuwetę zamykano i mierzono absorbancję fazy organicznej przy długości fali 515 nm, stosując jako odnośnik ślepą odczynnikową, którą stanowił roztwór chlorku sodowego (f) w ilości  $50 \text{ cm}^3$  poddany takiemu procesowi analitycznemu jako próbka badana.

Wykreślano krzywą kalibracyjną odkładając na osi rzędnych absorbancję, a na osi odciętych stężenie J w próbce (w przeliczeniu na mg J/kg soli).

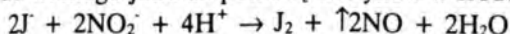
Wykonanie oznaczenia

Odważone 10g soli badanej przenoszono do kolby stożkowej i uzupełniano wodą destylowaną do obj.  $50 \text{ cm}^3$ . Następnie wykonywano oznaczenia postępując analogicznie jak podano dla roztworów wzorcowych. Z krzywej kalibracyjnej odczytywano wartość jonu jodkowego w próbce.

**Metoda spektrofotometryczna z użyciem azotynu sodu**

Zasada metody:

Jodki utlenia się do wolnego jodu za pomocą azotynów w środowisku kwaśnym [11]



Nadmiar azotynów i tlenek azotu usuwa się za pomocą mocznika. Wydzielony w reakcji jod oznacza się w postaci kompleksu jodoskrobiowego metodą spektrofotometryczną.

## Odczynniki i roztwory:

- a) Jodek potasowy cz.d.a. – nie zawierający wolnego jodu

Roztwór podstawowy:  $1 \text{ cm}^3 = 10 \text{ mgJ}$ Sposób przygotowania jak w metodzie z  $\text{CS}_2$ .Roztwór należy przechowywać w ciemnym miejscu, w temp. poniżej  $10^\circ\text{C}$ .

Roztwór roboczy:

 $1 \text{ cm}^3 = 0,1 \text{ mgJ}$  – sposób otrzymania jak w metodzie ekstrakcyjnej.

Roztwór KJ – 0,5% (m/v)

- b) Kwas siarkowy cz.d.a. – roztwór 1N, c) Mocznik cz.d.a. – wodny roztwór 50% (m/v), d) Azotyn sodowy cz.d.a. – roztwór wodny 0,5 M, e) Skrobia rozpuszczalna – roztwór 1% (m/v) – sposób przygotowania:

Odważyć 1,0 g skrobii i rozmieszać z  $5 \text{ cm}^3$  wody destylowanej. Zawiesinę wlać do  $50 \text{ cm}^3$  wrzącej wody destylowanej i gotować przez 5 min. Następnie dodać gliceryny cz.d.a. do objętości  $100 \text{ cm}^3$ , ostudzić, przelać do butelki z ciemnego szkła i przechowywać w temp. poniżej  $10^\circ\text{C}$ .

## Przygotowanie krzywej kalibracyjnej

Do kolbek miarowych o pojemności  $100 \text{ cm}^3$  odmierzano po 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0  $\text{cm}^3$  wzorcowego roboczego roztworu KJ. Próbkę uzupełniano 20%-owym wodnym roztworem NaCl do objętości  $50 \text{ cm}^3$ . Dodatkową próbkę (tzw. ślepą odczynnikową) stanowiło  $50 \text{ cm}^3$  20% roztworu NaCl. Do każdej z próbek stale mieszając dodawano  $2 \text{ cm}^3$  1N kwasu siarkowego,  $2 \text{ cm}^3$  0,5M roztworu azotynu sodu oraz  $5 \text{ cm}^3$  50% roztworu mocznika. Odstawiano kolbki na 20 min., od czasu do czasu mieszając ich zawartość. Następnie dodawano do każdej próbki  $0,5 \text{ cm}^3$  0,5% roztworu jodku potasowego, odstawiano na 10 min. i dodawano po  $1 \text{ cm}^3$  1% roztworu skrobi (wg 2.2.e). Następnie próbki uzupełniano wodą destylowaną do obj.  $100 \text{ cm}^3$  i przenoszono do kuwety. Absorbancję roztworów mierzono, przy długości fali 590 nm, wobec ślepej próbki odczynnikowej. Wykreślano krzywą kalibracji, odkładając na osi rzędnych absorbancję, a na osi odciętych stężenie jodków w próbce.

## Wykonanie oznaczenia

Odważano trzy próbki soli (średnio po ok. 10 g) do kolbek miarowych o poj.  $100 \text{ cm}^3$ . Sól rozpuszczano w  $50 \text{ cm}^3$  wody destylowanej i wykonywano oznaczenie analogicznie jak w przypadku wykreślania krzywej kalibracyjnej. Zawartość jodku odczytywano z krzywej wzorcowej i obliczano zawartość jodku potasowego w soli.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

## Metoda ekstrakcyjna

Jak wynika z przytoczonych reakcji, zamiast bezpośredniego utleniania jodków do jodu, w metodzie wykorzystano reakcję *Leiperta* [7] opartą na utlenieniu jodków do jodanów. W wyniku reakcji (II) – uzyskuje się sześciokrotne zwiększenie pierwotnej ilości jodków, co decyduje o możliwości wykorzystania tej metody do oznaczania niskich stężeń J.

Zastosowanie w ostatnim etapie postępowania analitycznego ekstrakcji przy użyciu rozpuszczalnika, pozwoliło na eliminację niepożądanych związków towarzyszących,

które nie przechodzą do frakcji organicznej. W badaniach wstępnych przeprowadzono próby z trzema rozpuszczalnikami organicznymi: chloroformem, dwusiarczkiem węgla i czterochlorkiem węgla. Stosowano ekstrakcję jednokrotną w różnych ilościach rozpuszczalnika lub ekstrakcję periodyczną. Jako płyn ekstrahujący wybrano dwusiarczek węgla, który spośród ocenianych rozpuszczalników organicznych charakteryzuje się największym współczynnikiem podziału jodu ( $D=625$ ) i najmniejszą rozpuszczalnością w wodzie. Korzystny stosunek objętości fazy organicznej do fazy wodnej (ok. 1:6) zwiększa efektywność ekstrakcji. Ponadto, duża różnica gęstości rozpuszczalnika organicznego i roztworu wodnego przyspiesza proces rozdziału faz po wytrząsaniu.

Duża wartość współczynnika podziału jodu między  $CS_2$  i wodą powoduje, że po jednokrotnej ekstrakcji uzyskuje się ilościowe przeprowadzenie jodu z fazy wodnej do organicznej. Obliczona teoretyczna efektywność ekstrakcji [1] przy jednorazowym użyciu  $CS_2$  w ilości zastosowanej w opisanym toku postępowania, wynosi 99,08%.

Krzywa kalibracyjna w badanym zakresie stężeń jodków, jest w postaci linii prostej. Przydatność metody została sprawdzona na różnych próbkach soli z użyciem wzorca wewnętrzznego; średni odzysk wynosił 98,6%.

Z uwagi na istotne utrudnienia występujące w tym postępowaniu analitycznym, a mianowicie: toksyczne odczynniki (brom, fenol) oraz niska temperatura wrzenia ( $46,5^{\circ}C$ ) organicznego płynu ekstrahującego, metodę tą uznano za mniej przydatną, zwłaszcza do badań seryjnych, rutynowych.

#### Metoda spektrofotometryczna

Zmodyfikowaną metodę spektrofotometryczną, w której zastosowano azotyn sodu jako utleniacz, poddano walidacji [2, 4, 5, 6, 9]. Obejmowała ona wyznaczenie precyzji, dokładności oraz liniowości metody.

#### Określenie precyzji

Precyzję metody oznaczania J określono na podstawie wyników 10 oznaczeń 20% (m/v) roztworu wodnego NaCl z dodatkami wzrastających ilości KJ, w następujących stężeniach: 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45; 50; 55; 60 mg J/kg soli. Wartości parametrów charakteryzujących precyzję oznaczeń J zestawiono w tabeli I.

Wskazują one, że względne odchylenia standardowe różnią się nieznacznie w zakresie stężeń 10–60 mg J/kg soli. Współczynniki zmienności mieszczą się w granicach 2,73 – 4,82%. Opisanie funkcją *t-Studenta* przedziały ufności wartości średniej, przy liczbie swobody  $f = n - 1$  i przyjętym poziomie prawdopodobieństwa  $P = 95\%$  ( $t_{0.95} = 1,833$ ), dla ww. zakresu stężeń wykazują zbieżność. Wszystkie te cechy oznaczają, że błędy przypadkowe metody zredukowane są do minimum.

#### Określenie dokładności

Badając odzysk analitu z modelowych próbek, oceniono zgodności wyników uzyskanych stosowaną metodą analityczną z wartością przyjętą jako prawdziwą. W tym celu sporządzono 7 modelowych roztworów próbek i w każdej wykonano 6 oznaczeń wartości jodku. Modelowe próbki zawierały ok. 55%, 70%, 85%, 100%, 115%, 130%, 145% wartości prawdziwej. Wyniki oznaczeń J we wzbogaconych próbkach, wielkości procentowego odzysku analitu wraz z odchyleniem standardowym, współczynniki zmienności oraz przedziały ufności wartości średniej odzysku dla poziomu istotności  $\alpha = 0,05$  zestawiono w tabeli II.

**Tabela I. Parametry charakteryzujące precyzję oznaczania jodków**

Parameters characterising precision of iodides determination

Ilość próbek n	Średnia arytmetyczna $\bar{X}$	Odchylenie standardowe pojedynczego wyniku S	Odchylenie standardowe średniej $S_{\bar{X}}$	Względne odchylenie standardowe $S_v$	Współczynnik zmienności $W_z$ [%]	Przedział ufności wartości średniej $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$
10	4,86	0,3086	0,0976	0,0635	6,35	4,86±0,18
10	9,76	0,3305	0,1045	0,0339	3,39	9,76±0,19
10	13,95	0,5007	0,1583	0,0359	3,59	13,95±0,29
10	20,20	0,9737	0,3079	0,0482	4,82	20,20±0,56
10	25,41	0,6948	0,2197	0,0273	2,73	25,41±0,40
10	34,99	1,4654	0,4634	0,0419	4,19	34,99±0,85
10	39,98	1,3817	0,4369	0,0346	3,46	39,98±0,80
10	45,06	1,4734	0,4659	0,0327	3,27	45,06±0,85
10	49,94	1,5715	0,4969	0,0315	3,15	49,94±0,91
10	55,00	2,4999	0,7905	0,0455	4,55	55,00±1,45
10	59,50	2,6319	0,8323	0,0442	4,42	59,50±1,53

**Tabela II. Wielkości charakteryzujące dokładność metody oznaczenia jodków we wzbogaconych próbkach soli**

Parameters characterising accuracy of the method of iodide determination in enriched salt samples

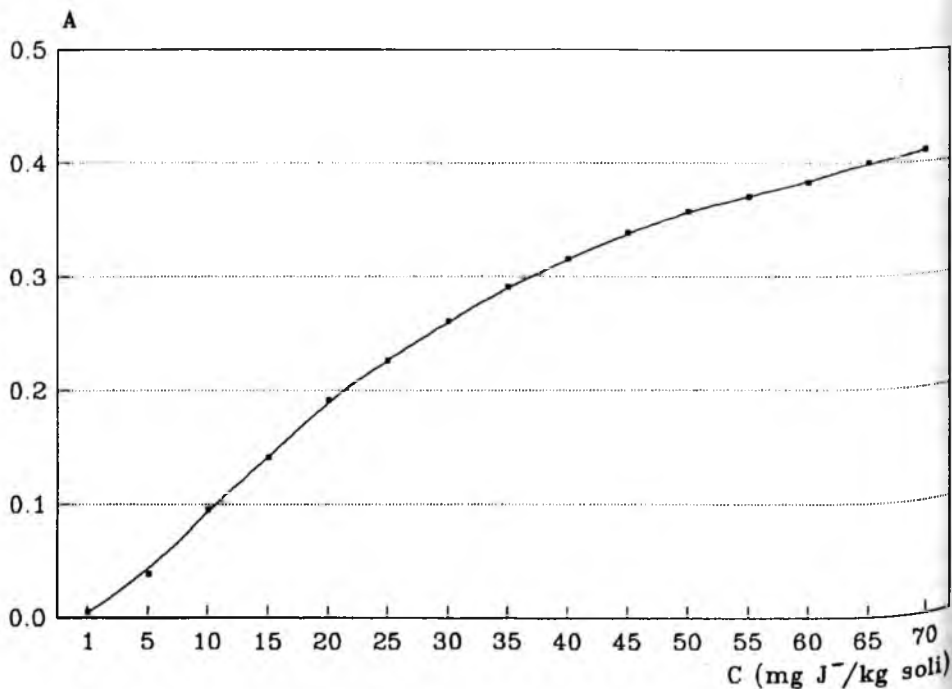
Oznaczenie [%]	n	Zawartość analitu we wzbogaconej próbce mg/kg soli		Średni odzysk [%] ± S	W z [%]	$\bar{X} + \Delta \bar{X}$
		Obliczona	Oznaczona (średnia)			
55	6	20	20,08	100,42±5,83	5,81	100,42±4,80
70	6	25	25,46	101,83±3,28	3,22	101,83±2,70
85	6	30	30,15	100,49±4,53	4,51	100,49±3,73
100	6	35	34,85	99,59±3,35	3,36	99,59±2,76
115	6	40	39,92	99,79±3,97	3,98	99,79±3,27
130	6	45	45,04	100,09±2,76	2,76	100,09±2,27
145	6	50	49,58	99,17±2,81	2,83	99,17±2,31

Zawarte w tabeli dane wskazują, że średni procent odzysku wynosi 100,2. Uzyskane wartości odzysków znajdują się w granicach 99,17% – 101,83% oraz mieszczą się w przedziale ufności średniej.

Pełniejszą charakterystykę dokładności metody otrzymano wykreślając zależność zawartości analitu od ich obliczonego stężenia w roztworach początkowych. Wyznaczono metodą najmniejszych kwadratów równanie krzywej regresji, mającej postać linii prostej  $y = a + bx$  i uzyskano następujące wartości parametrów tej krzywej:  $a=0,7406$ ;  $b=0,9759$  przy współczynniku korelacji  $r = 0,9994$ . Przedziały ufności parametrów  $a$  i  $b$  ( $t_{0f} = 1,943$ ) wynoszą  $\Delta a = 0,7911$ ,  $\Delta b = 0,0035$  [3]. Obliczony przedział ufności dla wyrazu wolnego tej krzywej mieści się w początku układu współrzędnych, co świadczy o niewystępowaniu stałego błędu systematycznego, zaś wielkość przedziału ufności dla współczynnika nachylenia krzywej regresji świadczy o braku proporcjonalnego błędu systematycznego.

#### Określenie liniowości

W celu określenia liniowości omawianej metody analitycznej, zbadano zależność pomiędzy absorbancją, a obliczonym stężeniem analitu w próbkach. Dla określenia charakteru krzywej kalibracyjnej przebadano zawartość J w próbkach, w takich stężeniach jak przy oznaczaniu precyzji, poszerzając zakres stężeń o wartości 1,25 i 2,5 oraz 65 i 70 mg J /kg soli. Uzyskane wyniki przedstawiono graficznie na rycinie 1, wykreślając absorpcję jako funkcję stężenia.



Ryc. 1. Krzywa wzorcowa jodków.  
Calibration curve of iodides standard.

Rycina wskazuje, że krzywa kalibracji nie ma charakteru linii prostej przechodzącej przez początek układu współrzędnych, co świadczy o niespełnieniu prawa *Lamberta-Beera*. Spełnienie tego prawa absorpcji nie jest warunkiem koniecznym, aby można było wykorzystać dany układ absorbujący do analizy ilościowej. Krzywą odpowiadającą ryc. 1, która została ustalona w ściśle określonych warunkach można zastosować jako krzywą kalibracji. Stężenie próbki badanej może być wówczas odczytywane z krzywej.

Przeanalizowany szeroki zakres stężeń pozwala na wyznaczenie granicy wykrywalności (1,25 mg J/kg soli), granicy oznaczalności (2,5 mg J/kg soli) i zakresu oznaczania (10–65 mg J/kg soli).

### WNIOSKI

1. Walidacja postępowania analitycznego z uwzględnieniem precyzji i dokładności wykazała, że metoda spektrofotometryczna z użyciem azotynu sodu nie jest obciążona błędami systematycznymi.

2. Opracowana metoda może być przydatna do oznaczania zawartości jodków w solach leczniczych jodkowo-bromkowych i w spożywczej soli jodowanej.

3. Prostota omawianej metody pozwala na zastosowanie jej do badań kontrolnych w procesie jodowania soli spożywczej. Metoda eliminuje dotychczas stosowane i toksyczne odczynniki (woda bromowa, fenol).

M. Drobnik, T. Latour

### DETERMINATION OF IODIDES IN SALTS – VALIDATION OF METHODS

#### Summary

The studies reported were aimed at finding a simple analytical method enabling quantitative determination of iodide in table iodised salt and in therapeutic iodide-bromide salts.

The analytical procedure proposed is a modification of spectrophotometric method recommended in the Polish Standards. The method based on the reaction of iodide oxidation by sodium nitrite was validated by determining its precision, accuracy and linearity.

Statistical analysis has shown that the coefficient of variation varies between 2,73 and 4,82%, recovery is from 99,17 to 101,83% and falls within the confidence interval for the mean recovery at the assumed level of significance. The method can be used for controlling the technology of table salt iodisation.

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Brdička R.*: Podstawy chemii fizycznej. PWN, Poznań 1969.
2. *Czarnecka J.*: Walidacja metod analitycznych. Materiały szkoleniowe GMP-Polfa, zeszyt 9, Warszawa 1995.
3. *Freund J.E.*: Podstawy nowoczesnej statystyki. PWE, Warszawa 1968.
4. *Funk W., Dammann V., Donnevert G.*: Quality Assurance in Analytical Chemistry. VCH Verlagsgesellschaft 1995.
5. *Gunzler Ed.*: Accreditation and Quality Assurance in Analytical Chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1996.
6. *Huber L.*: Good Laboratory Practice and Current Good Manufacturing Practice. Hewlett-Packard Company 1994.
7. *Leipert T.*: Mikrochim. Acta. 1938 3, 73, 147.

8. *Nikonorow K., Urbanek-Karłowska B.*: Toksykologia żywności. PZWL, Warszawa 1979.
9. *Parkany M. Ed.*: The Use of Recovery Factors in Trace Analysis. The Royal Society of Chemistry 1996.
10. PN-80/C-84081.35 Sól. Oznaczanie zawartości jodku potasowego.
11. *Willams W.J.*: Oznaczanie anionów. PWN, Warszawa 1985.

Otrzymano: 1997.11.24