

Iod und anorganische Iodide – Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma oder Urin mittels Ionenchromatographie-ICP-MS

Biomonitoring-Methode

B. Michalke¹

J. Morton²

T. Göen^{3,*}

A. Hartwig^{4,*}

MAK Commission^{5,*}

Keywords

Iod; anorganische Iodide;
Biomonitoring; Serum; Plasma;
Urin; Ionenchromatographie;
ICP-MS

¹ *Methodenentwicklung, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Abteilung Analytische BioGeoChemie, Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg, Deutschland*

² *Methodenprüfung, Health & Safety Executive (HSE), Harpur Hill, Buxton SK17 9JN, Vereinigtes Königreich*

³ *Leiter der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Friedrich-Alexander-Universität (FAU) Erlangen-Nürnberg, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen, Deutschland*

⁴ *Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe, Deutschland*

⁵ *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn, Deutschland*

* E-Mail: T. Göen (thomas.goeen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Abstract

The working group “Analyses in Biological Materials” of the Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area developed and verified the presented biomonitoring method.

This procedure enables the determination of iodide concentration in serum/plasma or urine by ion chromatography coupled with inductively coupled plasma-mass spectrometry (IC-ICP-MS). The method is reliable, sensitive, and – for a coupling method – relatively fast, and therefore suitable for routine testing in laboratories with high sample throughput. Using this method, iodide concentrations can be determined which are relevant for both occupational health and environmental medicine.

Sample preparation is carried out using ultra-pure water to dilute serum/plasma by a factor of 1 : 3 (v/v) and urine by a factor of 1 : 10 (v/v). Matrix interferences are significantly reduced by diluting the samples. Calibration is performed using matrix-matched calibration standards which are prepared in either serum/plasma or pooled urine.

Citation Note:

Michalke B, Morton J, Göen T, Hartwig A, MAK Commission. Iod und anorganische Iodide – Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma oder Urin mittels Ionenchromatographie-ICP-MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf. 2021 Mrz;6(1):Doc021. DOI: https://doi.org/10.34865/bi755356d6_1or

Manuskript abgeschlossen:
09 Mai 2018

Publikationsdatum:
31 Mrz 2021

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](#).



1 Kenndaten der Methode

Matrix	Serum/Plasma oder Urin
Analytisches Messprinzip	Kopplung von Ionenchromatographie und induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (IC-ICP-MS)

Parameter und entsprechende Arbeitsstoffe

Arbeitsstoff	CAS-Nr.	Parameter	CAS-Nr.
Iod	7553-56-2		
Ammoniumiodid	12027-06-04		
Calciumiodid	10102-68-8		
Kaliumiodid	7681-11-0	Iodid	–
Magnesiumiodid	10377-58-9		
Natriumiodid	7681-82-5		
Methyliodid	74-88-4		

Zuverlässigkeitskriterien

Iodid im Serum/Plasma

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 4,9 \%$
	Streubereich	$u = 12,5 \%$
	bei einer Konzentration von 1,63 µg Iodid pro Liter Serum und n = 6 Bestimmungen	
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 5,3 \%$
	Streubereich	$u = 13,7 \%$
	bei einer Konzentration von 1,64 µg Iodid pro Liter Serum und n = 6 Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 99 \%$
bei einer aufdotierten Konzentration von 5 µg Iodid pro Liter Serum und n = 6 Bestimmungen		
Nachweisgrenze:	0,35 µg Iodid pro Liter Serum/Plasma	
Bestimmungsgrenze:	1,2 µg Iodid pro Liter Serum/Plasma	

Iodid im Urin

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 1,4 \%$
	Streubereich	$u = 3,6 \%$
	bei einer Konzentration von 5,75 µg Iodid pro Liter Urin und n = 6 Bestimmungen	
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 2,3 \%$
	Streubereich	$u = 5,9 \%$
	bei einer Konzentration von 5,82 µg Iodid pro Liter Urin und n = 6 Bestimmungen	
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 107 \%$ bzw. 99 %
bei einer aufdotierten Konzentration von 10 µg bzw. 20 µg Iodid pro Liter Urin und n = 6 Bestimmungen		
Nachweisgrenze:	0,5 µg Iodid pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	1,7 µg Iodid pro Liter Urin	

2 Allgemeine Informationen zu Iod und Iodid

Iod ist ein grauschwarzer, metallglänzender Feststoff, der bereits bei Raumtemperatur flüchtig ist und sublimiert. Iod ist schlecht wasserlöslich, löst sich aber unter Entstehung einer Anlagerungsverbindung (I_3) gut in wässriger Kaliumiodid- bzw. Iodwasserstofflösung. In Ethanol, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform und anderen organischen Lösungsmitteln ist Iod ebenfalls gut löslich. Iod kommt in der Umwelt zwar verbreitet, jedoch nur in geringen Konzentrationen vor. Höhere Konzentrationen von Iod bzw. seinen Verbindungen (bis 1 %), findet man im Chilesalpeter, in Form von Lautarit ($Ca(IO_3)_2$) sowie als Iodid in der Asche von verbranntem Tang. Organische Iodverbindungen können aus Meeresalgen, Tangen und Schwämmen isoliert werden. Als Iodwasserstoff kommt Iod in geringen Mengen in vulkanischen Gasen vor. Die anorganischen Salze der Iodwasserstoffsäure werden als Iodide bezeichnet und sind sehr gut wasserlöslich.

Die wichtigsten Anwendungsgebiete für Iod finden sich in der Hygiene (z. B. als Desinfektionsmittel, Antiseptikum und Fungizid), in der Medizin (z. B. in der Radioiod-Diagnostik und -Therapie) und als Katalysator in der Synthesechemie (z. B. zur Synthese von Essigsäure aus Ethylen). Iod ist aber auch in Halogenlampen enthalten und dient darüber hinaus der Gewinnung sehr reiner Metalle (z. B. von Titan, Zirconium und Hafnium).

Iod ist ein essentielles Spurenelement. Die Hauptaufnahmequelle für Iod ist die Nahrung, wobei der tägliche Bedarf für Erwachsene mit 150–200 µg Iod angegeben wird (ATSDR 2004). In Deutschland wird empfohlen, dass die alimentäre Iodzufuhr bei Erwachsenen 500 µg pro Tag generell nicht überschreiten sollte (D-A-CH 2015; Domke et al. 2004). Da aber in Deutschland der Iodgehalt der Böden sehr gering ist, sind alle heimischen pflanzlichen und tierischen Lebensmittel als überwiegend iodarm einzustufen und die einzigen Lebensmittel, in denen Iod in nennenswerten Mengen vorkommt, sind Seefische und Meeresfrüchte. Noch im Jahr 2000 wurde Deutschland als Iodmangelgebiet eingestuft, auch wenn sich die Iodversorgung durch die Verwendung von iodiertem Speisesalz (20 mg Iod/kg) seit Anfang der 1980er-Jahre deutlich verbessert hat (D-A-CH 2015). In einer aktuellen Publikation zu Iod bezeichnet das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Deutschland, bezugnehmend auf den Iodgehalt im Boden, nach wie vor als Iodmangelgebiet (BfR 2020).

Nach oraler Aufnahme von wasserlöslichen Iodiden ist die gastrointestinale Resorption nahezu vollständig und auch inhaliertes Iod wird schnell resorbiert und zu fast 100 % retiniert (ATSDR 2004). Als Bestandteil der Schilddrüsenhormone ist Iod für den menschlichen Organismus essentiell. Der absolute Iodgehalt im Körper gesunder Erwachsener wird auf 10–20 mg geschätzt, wobei die Schilddrüse als Speicherorgan fungiert, in dem sich 70–80 % der Iod-Gesamtmenge befinden. Da Iod an vielen Stellen außerhalb der Schilddrüse vorkommt und auch dort aktiv in den Stoffwechsel eingreift, eignen sich die Schilddrüsenhormone nur begrenzt, um Aussagen über den Iodhaushalt bzw. eine exzessive Iodexposition zu erhalten (Michalke et al. 1996). Eine erhöhte orale Aufnahme von Iod kann zu Schilddrüsenfunktionsstörungen führen. Die beobachteten Erkrankungen umfassen Hyperthyreose, Autoimmunerkrankungen (z. B. Morbus Basedow und Hashimoto-Thyreoiditis), aber auch Hypothyreose und Struma (Hartwig 2014; WHO 2009).

Aufgrund regional unterschiedlicher Iodaufnahmemengen schwankt die Iodausscheidung während eines Tages und zwischen verschiedenen Tagen stark und erlaubt keine Ableitung von biologischen Werten. Etwa 11 % der aufgenommenen Menge werden pro Tag über die Faeces ausgeschieden, der Hauptteil (89 %) mit dem Urin (Domke et al. 2004). In Deutschland liegen die Iodgehalte in Urin – abhängig von regionalen Gegebenheiten – zwischen 90 und 190 µg Iod/l. Der normale Serumspiegel liegt zwischen 50 und 100 µg Iod/l (Michalke et al. 2000 a). Dabei ist zu beachten, dass Iodid im Serum nur etwa 2–7 %, vereinzelt bis ca. 13 %, des Gesamt-Iods darstellt, während es im Urin der Hauptmetabolit ist (Michalke et al. 1996). Nach Michalke et al. (2000 b) liegen etwa 86 % des Iods im Urin als Iodid, etwa 3 % als Triiodthyronin und 7 % als Thyroxin vor. In sehr geringen Mengen wurden darüber hinaus zwei unbekannte Spezies im Urin detektiert. Dabei handelte es sich möglicherweise um Tetra- und Triiodthyroessigsäure, Abbauprodukte von Triiodthyronin und Thyroxin.

Für Iod und anorganische Iodide wurde der bis 2006 geltende MAK-Wert ausgesetzt und der Stoff dem Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste zugeordnet, da derzeit kein MAK-Wert und auch kein Beurteilungswert in biologischem Material abgeleitet werden kann. Weitere Informationen zur toxikologischen Bewertung des Iods und der

anorganischen Iodide sind den entsprechenden Begründungen der Kommission zu entnehmen (Greim 2006; Hartwig 2014; Nasterlack et al. 2016).

3 Grundlage des Verfahrens

Mit der hier beschriebenen Methode wird die Iodidkonzentration in Serum/Plasma oder in Urin mittels Kopplung von Ionenchromatographie (IC) und induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) bestimmt. Die Methode ist zuverlässig, empfindlich und – obwohl eine Kopplungsmethode – relativ schnell und zudem routinetauglich für Labore mit hohem Probendurchsatz. Es können sowohl arbeitsmedizinisch wie umweltmedizinisch relevante Iodidkonzentrationen bestimmt werden.

Die Probenvorbereitung erfolgt durch 1 : 3 (V/V)-Verdünnung des Serums/Plasmas bzw. 1 : 10 (V/V)-Verdünnung des Urins mit hochreinem Wasser. Durch die Verdünnung der Proben werden die auftretenden Matrixinterferenzen stark reduziert. Die Kalibrierung erfolgt mit Kalibrierstandards, die in Serum/Plasma oder Poolurin angesetzt werden.

4 Geräte, Chemikalien und Lösungen

4.1 Geräte

- HPLC-System mit automatischem Probengeber (z. B. Knauer 1100 Smartline inert Series Gradient, KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin)
- Anionenaustauschersäule (z. B. Thermo-Dionex AG11, 40 × 4 mm mit 20- μ l-Probenvolumen, Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich)
- ICP-MS (z. B. NexION, PerkinElmer Inc., Rodgau)
- Subboiling-Apparatur BSB-939-IR (z. B. Berghof Products + Instruments GmbH, Eningen)
- Analysenwaage (z. B. Mettler-Toledo GmbH, Gießen)
- Verschiedene Bechergläser, Messkolben und Glasgewindefläschchen (z. B. VWR International GmbH, Darmstadt)
- Kohlenhubpipetten mit variabler Volumeneinstellung (1–10 μ l, 10–100 μ l bzw. 100–1000 μ l) mit den passenden Pipettenspitzen (z. B. Eppendorf AG, Hamburg)
- 1,8-ml-Probengläschen mit Schraubkappen (z. B. MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren)
- Einmalentnahmebesteck für die Serumgewinnung (z. B. S-Monovette[®], Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)
- Einmalentnahmebesteck mit Antikoagulanzen für die Plasmagewinnung (z. B. EDTA-Vacutainer[®], Becton Dickinson GmbH, Heidelberg)
- Urinbecher (z. B. Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)

4.2 Chemikalien

Wenn nicht anders angegeben, sind alle genannten Chemikalien mindestens in p. a.-Qualität zu verwenden.

- Zertifizierter Iodidstandard, 1000 mg/l (z. B. Nr. AS-19-2Y, SPEX CertiPrep, Rickmansworth, Vereinigtes Königreich)

- Seronorm™ Pharmaca Kontrollserum L-1 (Nr. 101405, invicon diagnostic concepts GmbH, München)
- ClinChek® Kontrollurin L-1 (Nr. 17080, RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, München)
- Ammoniumacetat (z. B. Nr. 101116, Merck KGaA, Darmstadt)
- Essigsäure, 30 % (z. B. Nr. 159166, Merck KGaA, Darmstadt)
- Methanol für die Flüssigkeitschromatographie (z. B. Nr. 106018, Merck KGaA, Darmstadt)
- Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris) (z. B. Nr. 108382, Merck KGaA, Darmstadt)
- Hochreines Wasser (z. B. Milli-Q plus VE System (> 18 MΩ), Merck KGaA, Darmstadt)
- Argon 4.6 (z. B. Linde GmbH, Pullach)

4.3 Lösungen

- HPLC-Laufmittel A: 10 mmol/l Tris-Essigsäure-Puffer (pH 8,0)
In ein 1000-ml-Becherglas werden genau 1,21 g Tris eingewogen und in 900 ml hochreinem Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit 30%iger Essigsäure auf pH 8,0 eingestellt. Die Lösung wird in einen 1000-ml-Messkolben überführt und dieser bis zur Markierung mit hochreinem Wasser aufgefüllt. Der Puffer wird filtriert und bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.
- HPLC-Laufmittel B: 10 mmol/l Tris-Essigsäure-Puffer mit 500 mmol/l Ammoniumacetat und 5 % Methanol (pH 8,0)
In ein 1000-ml-Becherglas werden genau 1,21 g Tris und genau 38,54 g Ammoniumacetat eingewogen und in 900 ml hochreinem Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit 30%iger Essigsäure auf pH 8,0 eingestellt. Anschließend werden 50 ml Methanol zugesetzt. Die Lösung wird in einen 1000-ml-Messkolben überführt und dieser bis zur Markierung mit hochreinem Wasser aufgefüllt. Der Puffer wird filtriert und bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

Bei Lagerung im Kühlschrank sind die Laufmittel mindestens zwei Wochen haltbar.

4.4 Kalibrierstandards

- Iodid-Stammlösung (10 mg/l)
1 ml des zertifizierten Iodidstandards (1000 mg/l) wird in einen 100-ml-Messkolben pipettiert. Der Kolben wird mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.
- Iodid-Dotierlösung I (DL I, 100 µg/l)
1 ml der Stammlösung wird in einen 100-ml-Messkolben pipettiert. Der Kolben wird mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.
- Iodid-Dotierlösung II (DL II, 20 µg/l)
2 ml der Dotierlösung I werden in einen 10-ml-Messkolben pipettiert. Der Kolben wird mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Die Iodid-Stammlösung und die Iodid-Dotierlösungen sind bei einer Lagertemperatur von –20 °C mindestens sechs Monate haltbar.

Für die matrixangepasste Kalibrierung werden die Kalibrierstandardlösungen jeweils frisch in Serum/Plasma oder Poolurin angesetzt. Dazu werden die Iodid-Dotierlösungen I und II gemäß den in [Tabelle 1](#) und [2](#) angegebenen Pipettierschemata in 4-ml-Glasgewindelfläschchen mit Serum/Plasma bzw. Poolurin und hochreinem Wasser verdünnt. Die

Kalibrierstandardlösungen liegen bereits in der vorgesehenen 1 : 3 (Serum/Plasma) bzw. 1 : 10 (Urin) Verdünnung vor und werden ohne weitere Aufarbeitung analysiert.

Tab. 1 Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards für die Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma

Kalibrierstandard	Serum/Plasma [μl]	DL I [μl]	DL II [μl]	Hochreines Wasser [μl]	Endvolumen [μl]	Iodid-Konz. im verd. Serum/Plasma [$\mu\text{g/l}$]	Iodid-Konz. im unverd. Serum/Plasma [$\mu\text{g/l}$]
0	300	0	0	600	900	0	0
1	300	0	45	555	900	1	3
2	300	0	90	510	900	2	6
3	300	45	0	555	900	5	15
4	300	90	0	510	900	10	30
5	300	180	0	420	900	20	60

Tab. 2 Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards für die Bestimmung von Iodid in Urin

Kalibrierstandard	Poolurin [μl]	DL I [μl]	Hochreines Wasser [μl]	Endvolumen [μl]	Iodid-Konz. im 1:10 verd. Urin [$\mu\text{g/l}$]	Iodid-Konz. im unverd. Urin [$\mu\text{g/l}$]
0	100	0	900	1000	0	0
1	100	50	850	1000	5	50
2	100	100	800	1000	10	100
3	100	200	700	1000	20	200
4	100	300	600	1000	30	300

5 Probenahme und Probenaufbereitung

5.1 Probenahme

Serum/Plasma

Für die Serumgewinnung erfolgt die Blutabnahme mit sterilem Einmalentnahmebesteck. Es eignen sich z. B. S-Monovetten[®] ohne Zusatz von Gerinnungsaktivatoren. Zur Serumgewinnung sollte die Blutprobe mindestens 20 Minuten (höchstens jedoch eine Stunde) durchgerinnen. Nach Zentrifugation bei $2000 \times g$ für 15 Minuten (15°C) wird der Überstand in neutrale Probenröhrchen überführt.

Für die Plasmagewinnung erfolgt die Blutabnahme mit Einmalentnahmebesteck mit Antikoagulantzzusatz (z. B. EDTA-Vacutainer[®]). Das Entnahmeröhrchen wird anschließend leicht umgeschwenkt, damit die Probe homogen durchmischt ist. Die Blutprobe wird im Anschluss bei $2000 \times g$ für zehn Minuten zentrifugiert. Die Plasmaphase wird mit einer Pipette in ein neues Probenröhrchen überführt.

Iodid im Serum/Plasma sollte so bald wie möglich nach der Probenahme bestimmt werden, um keine Minderbefunde zu erhalten. Eine Lagerung des Serums/Plasmas für maximal eine Woche bei 4°C scheint ohne Analytverlust möglich zu sein.

Urin

Die Urinproben werden in Urinbechern gesammelt. Zur Überprüfung des Iod- und Iodidstatus ist 24-h-Sammelurin aussagekräftiger als Spontanurin, weil letzterer nur kurz zurückliegende Belastungsereignisse widerspiegelt. Für das Monitoring von Iodbelastungen am Arbeitsplatz ist eine Probenahme nach mehreren vorangegangenen Schichten bzw. am Ende der Schicht sinnvoll. Die Urinproben können für einige Tage bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung über Wochen oder Monate sollte der Urin bei -20 °C eingefroren werden.

5.2 Probenaufbereitung

Die Serum-/Plasma- oder Urinproben werden auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt. Zur Probenvorbereitung wird das Serum/Plasma 1 : 3 (V/V) bzw. der Urin 1 : 10 (V/V) mit hochreinem Wasser verdünnt.

Bei den Kalibrierstandards ist die Verdünnung der jeweiligen Matrix bereits erfolgt. Sie werden direkt zur Messung verwendet.

6 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Die analytische Messung erfolgt an einer Gerätekombination bestehend aus einer HPLC-Anlage mit Anionenaustauschersäule und einem ICP-MS.

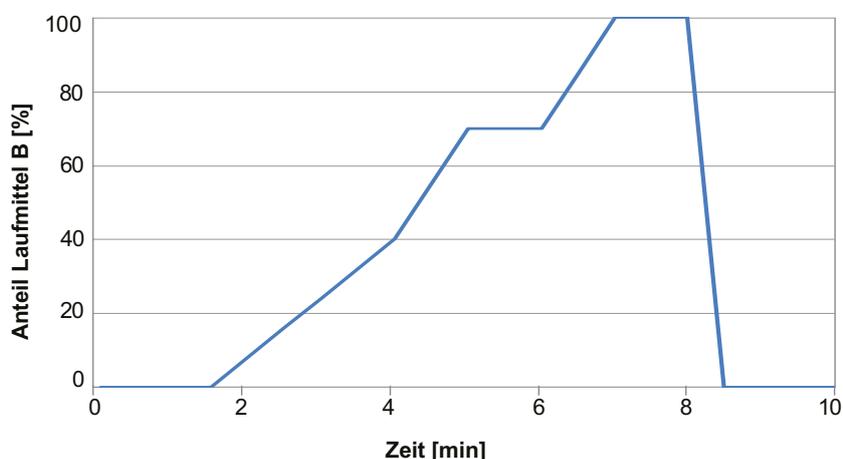
6.1 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie

Trennsäule:	Material:	Ethylvinylbenzol mit 55 % Divinylbenzol vernetzt
	Funktionelle Gruppe:	Quaternäres Ammoniumalkanolat
	Länge:	40 mm
	Innerer Durchmesser:	4,0 mm
	Partikelgröße:	9 µm
Trennprinzip:	Anionenaustausch	
Laufmittel:	Laufmittel A	Tris-Essigsäure-Puffer (10 mmol/l; pH 8,0)
	Laufmittel B	Tris-Essigsäure-Puffer (10 mmol/l) mit 500 mmol/l Ammoniumacetat und 5 % Methanol (pH 8,0)
Flussrate:	0,9 ml/min	

Das Gradientenprogramm ist in [Tabelle 3](#) angegeben und in [Abbildung 1](#) graphisch dargestellt. Die Chromatographiesäule wird im Zeitintervall von sechs bis acht Minuten durch Freispülen mit einem Eluenten hoher Ionenstärke gereinigt und im Zeitintervall von acht bis zehn Minuten mit Laufmittel A reäquilibriert.

Tab. 3 Gradientenprogramm für die Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma oder Urin

Zeit [min]	Laufmittel A [Vol.-%]	Laufmittel B [Vol.-%]
0	100	0
1,5	100	0
4	60	40
5	30	70
6	30	70
7	0	100
8	0	100
8,5	100	0
10	100	0

**Abb. 1** Graphische Darstellung des Gradientenprogramms für die Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma oder Urin

6.2 Probenzuführung und Plasma-Einstellungen

Die beschriebenen Parameter für das ICP können nur als Orientierungshilfe dienen und müssen an jedem Gerät individuell optimiert werden. Gegebenenfalls sind an den Geräten anderer Hersteller auch zusätzliche Einstellungen notwendig. Prinzipiell sind auch andere Zerstäuber zur Probenzuführung verwendbar.

Plasma-Leistung:	1,2 kW	
Gasfluss:	Zerstäubergas	0,96 l Ar/min, täglich optimiert
	Mittleres Gas	0,6 l Ar/min
	Äußeres Gas	15 l Ar/min
Injektorrohr (Torch):	Innendurchmesser	1,8 mm
Probenzufuhr:	HPLC-Effluent, 0,9 ml/min	
Zerstäuber:	Seaspray	
Zerstäuberkammer:	Zyklon	

6.3 Massenspektrometrie

Auch die massenspektrometrischen Einstellungen hängen aufgrund der unterschiedlichen Bauart der Spektrometer vom Gerätetyp ab und müssen immer im Einzelfall optimiert werden. Die Messungen zur Iodidbestimmung erfolgen im Standardmodus, das heißt, dass kein Kollisionszellenbetrieb oder dynamischer Reaktionszellenbetrieb notwendig ist und somit auch keine entsprechenden Zusatzgase und Einstellungen am Gerät. Grundsätzlich sollte das ICP-MS entsprechend den Herstellerangaben die tägliche Optimierungsroutine durchlaufen und die Spezifikationswerte erreichen, die je nach Gerätehersteller unterschiedlich sind. Für eine ausreichende chromatographische Auflösung sollte eine *Dwelltime* von 100–150 ms gewählt werden.

7 Analytische Bestimmung

Die Kopplung von Ionenchromatographie und ICP-MS ermöglicht die Bestimmung der verschiedenen Iodspezies, die im Serum/Plasma oder Urin vorliegen.

Die nach [Abschnitt 5.2](#) verdünnten Proben werden direkt vermessen. An der Anionentauscher-Chromatographiesäule werden die in den Proben vorliegenden Iodspezies voneinander getrennt, wobei besonders auf die saubere Trennung des Iodids von den übrigen Iodspezies geachtet werden muss. Die Quantifizierung erfolgt mittels ICP-MS. Das Iod wird selektiv online auf $m/z = 127$ gemessen. Beispielhafte Chromatogramme in Serum bzw. Urin sind in den [Abbildungen 2](#) und [3](#) gegeben.

Die Proben werden dreifach analysiert und der Mittelwert zur Datenausgabe verwendet.

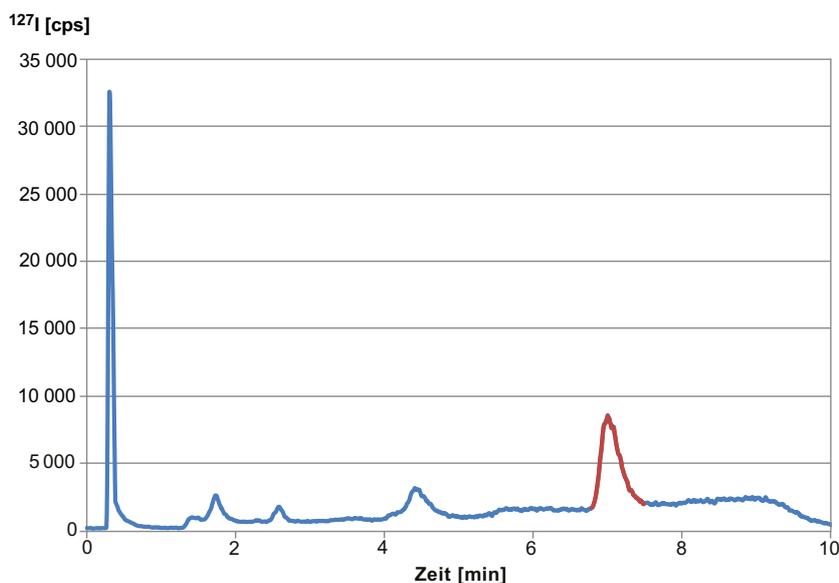


Abb. 2 Chromatogramm einer 1 : 3 (V/V) verdünnten Serumprobe

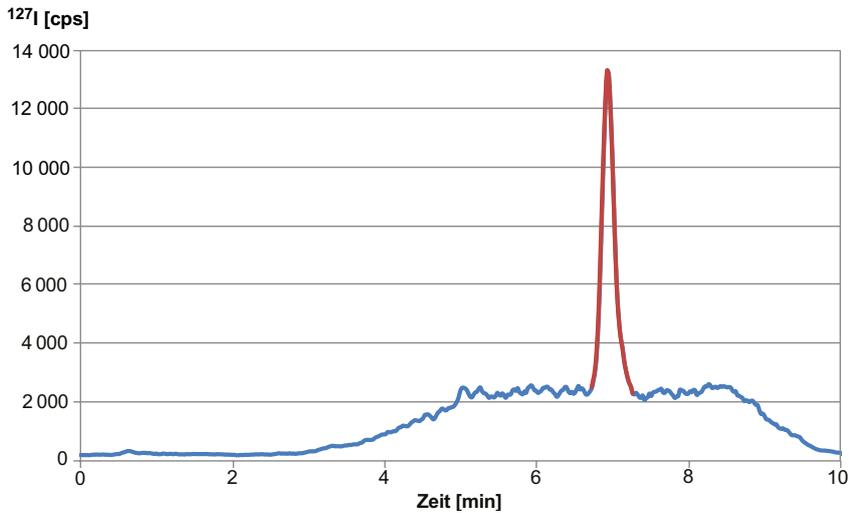


Abb. 3 Chromatogramm einer 1 : 10 (V/V) verdünnten Urinprobe

8 Kalibrierung

Eine Quantifizierung unter Verwendung von in Wasser angesetzten Kalibrierstandards führt zu einer Überschätzung der Iodidkonzentration um etwa 20 %. Daher wird empfohlen, matrixangepasste Kalibriergeraden zur Quantifizierung zu verwenden. Die nach Abschnitt 4.4 in den jeweiligen Probenmatrices angesetzten Kalibrierstandards werden direkt mittels IC-ICP-MS analysiert.

Durch Auftragung der Peakflächen des Iodidpeaks gegen die dotierte Iodidkonzentration entsteht eine Kalibriergerade, die im Bereich von der Bestimmungsgrenze bis zu mindestens 20 µg Iodid/l Serum/Plasma bzw. 30 µg Iodid/l Urin linear ist. Kalibriergeraden in Serum und Urin sind beispielhaft in den Abbildungen 4 und 5 dargestellt.

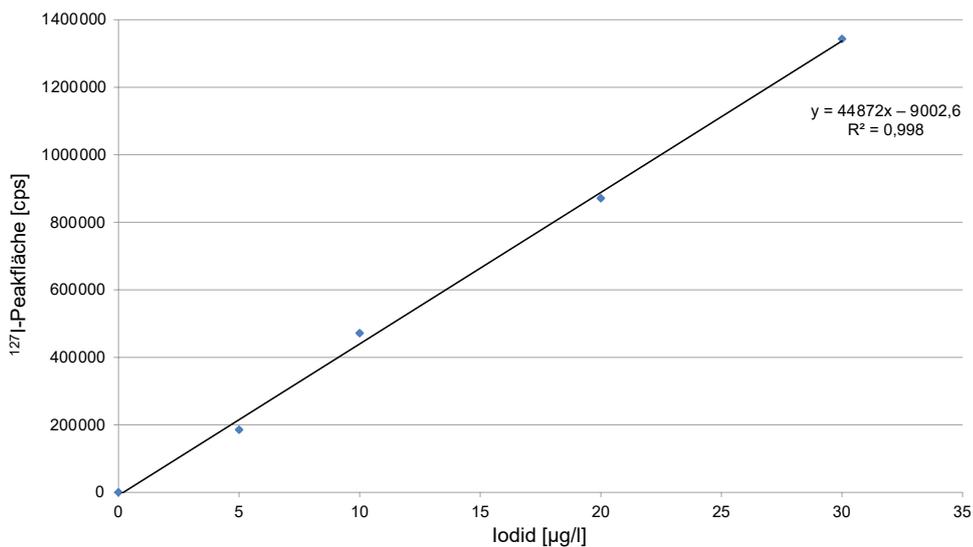


Abb. 4 Matrixangepasste Kalibriergerade für die Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma; die angegebenen Konzentrationen entsprechen dem Iodidgehalt in der 1 : 3 (V/V) verdünnten Probe

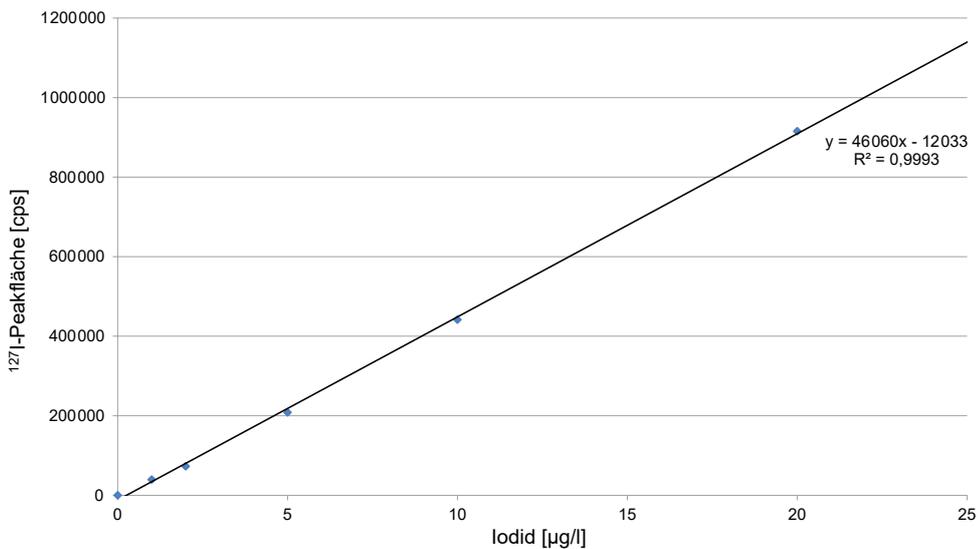


Abb. 5 Matrixangepasste Kalibriergerade für die Bestimmung von Iodid in Urin; die angegebenen Konzentrationen entsprechen dem Iodidgehalt in der 1 : 10 (V/V) verdünnten Probe

9 Berechnung der Analysenergebnisse

Zur Berechnung des Analytgehaltes in einer Serum-/Plasma- bzw. in einer Urinprobe wird die Peakfläche des Iodid-peaks ermittelt. Mithilfe der zur Analysenserie gehörenden Kalibrierfunktion des Analyten (vgl. [Abschnitt 8](#)) kann aus der ermittelten Peakfläche unter Berücksichtigung der Probenverdünnung der Iodidgehalt in µg/l Serum/Plasma bzw. µg/l Urin berechnet werden. Liegt das Messergebnis oberhalb des Kalibrierbereiches, so wird die entsprechende Probe mit hochreinem Wasser verdünnt, erneut aufgearbeitet und analysiert.

10 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer und den Angaben in einem von der Kommission veröffentlichten allgemeinen Kapitel verfahren (Bader et al. 2010; Bundesärztekammer 2014).

Für die Bestimmung von Iodid in Serum/Plasma oder Urin sind Kontrollmaterialien von verschiedenen Herstellern (z. B. RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, München oder invicon diagnostics concepts GmbH, München) kommerziell erhältlich. Die Kontrollmaterialien sollten nach der Kalibrierung, nach jeder zwanzigsten Probe und am Ende der Messserie analysiert werden.

11 Beurteilung des Verfahrens

Die Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde durch eine umfassende Validierung sowie durch Nachstellung und Validierung der Methode in einem zweiten, unabhängigen Labor bestätigt.

11.1 Präzision

Die Ermittlung der Präzision in der Serie erfolgte durch wiederholte Bestimmung von Iodid in einem nativen Serum bzw. Urin. Für die Präzision in der Serie ergaben sich bei sechsfacher Bestimmung der Proben die in [Tabelle 4](#) dargestellten relativen Standardabweichungen mit den entsprechenden Streubereichen.

Tab. 4 Präzision in der Serie für die Bestimmung von Iodid in Serum oder Urin (n = 6)

Matrix	Gemessene Konzentration [$\mu\text{g/l}$]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Serum	1,63	4,9	12,5
Urin	5,75	1,4	3,6

Darüber hinaus wurde die Präzision von Tag zu Tag bestimmt. Hierzu wurden dieselben Materialien an sechs verschiedenen Tagen aufgearbeitet und gemäß den vorhergehenden Abschnitten analysiert. Die ermittelten Präzisionsdaten sind der [Tabelle 5](#) zu entnehmen.

Tab. 5 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Iodid in Serum oder Urin (n = 6)

Matrix	Gemessene Konzentration [$\mu\text{g/l}$]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
Serum	1,64	5,3	13,7
Urin	5,82	2,3	5,9

11.2 Richtigkeit

Zur Bestimmung der Richtigkeit wurde eine Serumprobe mit 5 μg Iodid pro Liter dotiert und sechsfach gemessen. Entsprechend wurde eine Urinprobe mit 10 μg bzw. 20 μg Iodid pro Liter Urin dotiert und die Wiederfindungsrate bestimmt (n = 6). Die in diesen Proben bestimmten relativen Wiederfindungsraten sind in [Tabelle 6](#) dargestellt.

Tab. 6 Mittlere relative Wiederfindungsraten für die Bestimmung von Iodid in Serum oder Urin (n = 6)

Matrix	Sollwert [$\mu\text{g/l}$]	Messwert [$\mu\text{g/l}$]	Relative Wiederfindungsrate r [%]
Serum	5	5,1 ^{a)}	99
Urin	10	10,7 ^{a)}	107
	20	19,8 ^{a)}	99

^{a)} abzüglich Hintergrundgehalt

Zudem wurden zur internen Qualitätssicherung Kontrollmaterialien für beide Matrices analysiert. Für den ClinChek[®]-Kontrollurin war der Referenzwert für das Gesamt-Iod im Urin mit 115 $\mu\text{g/l}$ angegeben, wobei Iodid als Hauptiodspezies in Urin zu erwarten war. Eine Peakflächenabschätzung im analysierten Chromatogramm ergab, dass etwa 90 % des Iods als Iodid vorlag und 10 % in Form anderer Iodspezies. Nach Michalke et al. (2000 b) liegen 86 % des Iods im Urin als Iodid vor. Demzufolge waren in dem Kontrollurin etwa 104 $\mu\text{g/l}$ (90 %) oder 99 $\mu\text{g/l}$ (86 %) Iodid zu erwarten.

Zur Kontrolle wurde außerdem ein Kontrollserum von SeronormTM analysiert. Der Referenzwert für das Gesamt-Iod in diesem Serum war mit $54 \pm 1,2$ $\mu\text{g/l}$ angegeben, wobei kein Wert für Iodid angegeben war. Die Bestimmung des Gesamt-Iods ergab 54,6 $\mu\text{g/l}$, die Iodidbestimmung ergab 1,6 $\mu\text{g/l}$. Die Ergebnisse sind in [Tabelle 7](#) zusammengefasst.

Tab. 7 Bestimmung von Gesamt-Iod und Iodid in zertifiziertem Kontrollmaterial

Kontrollmaterial	Sollwert [$\mu\text{g/l}$]		Messwert [$\mu\text{g/l}$]		Wiederfindungsrate r [%]	
	Gesamt-Iod	Iodid	Gesamt-Iod	Iodid	Gesamt-Iod	Iodid
Serum, Seronorm TM	$54 \pm 1,2$	–	54,6	1,6	101	–
Urin, ClinChek [®]	115	99 ^{a)}	115	98,4	100	99,4

^{a)} erwarteter Gehalt

11.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweisgrenze wurde aus der Standardabweichung der spektralen Untergrundintensität nach dem 3s-Kriterium ermittelt. Die Bestimmungsgrenze wurde entsprechend aus dem zehnfachen Signal/Rausch-Verhältnis ermittelt. Die für die Bestimmung von Iodid im Serum/Plasma bzw. Urin berechneten Werte sind in [Tabelle 8](#) dargestellt.

Tab. 8 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Bestimmung von Iodid im Serum/Plasma oder Urin

Matrix	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]
Serum/Plasma	0,35	1,2
Urin	0,5	1,7

11.4 Störeinflüsse

Werden überwiegend matrixreiche Proben wie Serum- oder Plasmaproben vermessen, sollte die chromatographische Trennleistung regelmäßig kontrolliert werden. Im Rahmen der Methodenentwicklung betrug die Säulenstandzeit mehrere hundert Serumanalysen, wobei sich die Retentionszeiten mit zunehmender Alterung der Chromatographiesäule erwartungsgemäß verkürzten. Der Iodidpeak blieb jedoch vollkommen getrennt von anderen Iodverbindungen und konnte mit gleichbleibender Präzision und Richtigkeit bestimmt werden.

Die Probenvorbereitung besteht in einer einfachen Verdünnung der Proben mit hochreinem Wasser. Dabei ist auf die Verwendung von frischem Wasser zu achten, um mögliche Iodkontaminationen auszuschließen. Auch die Laufmittel sollten stets mit frischem hochreinem Wasser angesetzt werden. Generell findet sich ein geringer Blindwert, der aus den zur Laufmittelherstellung verwendeten Chemikalien stammt. Dieser Blindwert ist jedoch stabil und stört die Iodidbestimmung nicht.

Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde bei den Serumproben auch die Proteinfällung mit 30 % Ethanol getestet. Diese führte zwar zu einer verringerten Proteinmatrix und einer besseren Reproduzierbarkeit mit relativen Standardabweichungen von 2 % statt 5 %, aber auch zu einer Überschätzung der Iodidkonzentration um etwa 10 %. Die Verwendung von Tellur als internem Standard wurde ebenfalls getestet, brachte jedoch gegenüber der Bestimmung ohne internen Standard keinen Vorteil.

Für eine korrekte Iodidbestimmung muss insbesondere bei Serum- und Plasmaproben die Lagerung der Proben beachtet werden. Bei wiederholten Messungen identischer Proben zeigte sich, dass nach einer kurzen Lagerungsdauer von etwa einer Woche noch korrekte Analytgehalte im Serum/Plasma ermittelt werden konnten. Bei längerer Lagerung der Proben fand jedoch eine Umwandlung in andere Iodverbindungen statt, die mit der vorliegenden Methode nicht erfasst wurden. Es kam somit zu einem Iodidminderbefund bei gleichbleibendem Gesamt-Iodgehalt.

12 Diskussion der Methode

Die hier beschriebene Analysemethode gestattet eine einfache, zuverlässige und sensitive Bestimmung der Iodidkonzentration in Serum/Plasma bzw. Urin. Mit guten Präzisionsdaten und guten Wiederfindungsraten erfüllt die vorliegende IC-ICP-MS-Methode hinsichtlich Präzision und Richtigkeit die an Analysenmethoden gestellten Anforderungen.

Mit einer Bestimmungsgrenze von 1,2 μg Iodid pro Liter Serum/Plasma bzw. 1,7 μg Iodid pro Liter Urin ist eine Iodidbestimmung sowohl im umweltmedizinischen als auch im arbeitsmedizinischen Konzentrationsbereich möglich. Allerdings unterliegt die Iodausscheidung im Allgemeinen einer großen Schwankungsbreite, so dass die individuelle Beurteilung der Messwerte erschwert ist (Greim 2006).

Zur Auftrennung der Iodspezies wurde eine kurze Anionenaustauschersäule gewählt, um kurze Trennläufe zu gewährleisten. Mit dieser Säule wurde eine Analysenzeit von 10 Minuten pro Probe (einschließlich Reäquilibrierung der Säule) erreicht, so dass die hier beschriebene Methode auch für Labore mit hohem Probendurchsatz routinetauglich

ist. Grundsätzlich können mit der Methode auch weitere Iodverbindungen analysiert werden, wobei gegebenenfalls die Analysenlaufzeit verlängert werden muss.

Verwendete Messgeräte HPLC-System mit automatischem Probengeber (Knauer 1100 Smartline inert Series Gradient, KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin); Anionenaustauschersäule (Thermo-Dionex AG11 (40 × 4 mm) mit 20- μ l-Probenvolumen, Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich); ICP-MS (NexION, PerkinElmer Inc., Rodgau)

Literatur

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2004) Toxicological profile for iodine. ATSDR, Atlanta, GA. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp158.pdf>, abgerufen am 12 Okt 2020
- Bader M, Barr D, Göen T, Schaller KH, Scherer G, Angerer J, Arbeitsgruppe Analysen in biologischem Material (2010) Allgemeine Vorbemerkungen. Zuverlässigkeitskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J, Hartwig A (Hrsg) Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Bd 2: Analysen in biologischem Material, 19. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim, 284–336. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.bireliabd0019>
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2020) Jodversorgung in Deutschland wieder rückläufig – Tipps für eine gute Jodversorgung. BfR, Berlin. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/jodversorgung-in-deutschland-wieder-ruecklaeufig-tipps-fuer-eine-gute-jodversorgung.pdf>, abgerufen am 12 Okt 2020
- Bundesärztekammer (2014) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dtsch Arztebl 111(38): A1583–A1618
- D-A-CH (Deutsche Gesellschaft für Ernährung; Österreichische Gesellschaft für Ernährung; Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung; Schweizerische Vereinigung für Ernährung) (Hrsg) (2015) Iod. In: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2. Aufl. Umschau Braus GmbH, Verlagsgesellschaft, Frankfurt a M, 179–194
- Domke A, Großklaus R, Niemann B, Przyrembel H, Richter K, Schmidt E, Weißenborn A, Wörner B, Ziegenhagen R (Hrsg) (2004) Risikobewertung von Jod. In: Verwendung von Mineralstoffen in Lebensmitteln. Toxikologische und ernährungsphysiologische Aspekte, Teil II. Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, 201–240. https://www.bfr.bund.de/cm/350/verwendung_von_mineralstoffen_in_lebensmitteln_bfr_wissenschaft_4_2004.pdf, abgerufen am 12 Okt 2020
- Greim H (Hrsg) (2006) Iod. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 40. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb755356d0040>
- Hartwig A (Hrsg) (2014) Iod und anorganische Iodide. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 57. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb755356d0057>
- Michalke B, Schramel P, Hasse S (1996) Determination of free iodide in human serum: separation from other I-species and quantification in serum pools and individual samples. Mikrochim Acta 122(1–2): 67–76. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01252407>
- Michalke B, Schramel P, Witte H (2000 a) Iodine speciation in human serum by reversed-phase liquid chromatography-ICP-mass spectrometry. Biol Trace Elem Res 78(1–3): 81–91. DOI: <https://doi.org/10.1385/BTER:78:1-3:81>
- Michalke B, Schramel P, Witte H (2000 b) Method developments for iodine speciation by reversed-phase liquid chromatography-ICP-mass spectrometry. Biol Trace Elem Res 78(1–3): 67–79. DOI: <https://doi.org/10.1385/BTER:78:1-3:67>
- Nasterlack M, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2016) Iod und anorganische Iodide. BAT Value Documentation in German Language. MAK Collect Occup Health Saf 1(4): 2686–2696. DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.bb755356d0022>
- WHO (World Health Organisation) (2009) Iodine and inorganic iodides: human health aspects. Concise international chemical assessment document, No. 72. WHO, Geneva. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43579/9789241530729_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y, abgerufen am 12 Okt 2020