นิพนธ์ต้นฉบับ

ว กรมวิทย พ 2542 ; 41 (4) : 353-363

การประเมินผลการใช้ชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนในเกลือเสริมไอโอเดต

Evaluation of the Test Kit for Rapid Iodine Determination in Iodated Salt

วันทนีย์ ขำเลิศ
เกษมศรี ชื่นสุพงษ์
ยุพเรศ เอื้อตรงจิตต์
ทัศนีย์ จุฬามรกต

Wanthanee Kamlert
Kasemsri Chuensupong
Yuparaid Uetrongchit
Tasanee Chulamorakot

กองอาหาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Division of Food
Department of Medical Sciences
Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ กองอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทำการศึกษาค้นคว้าพัฒนา และผลิตชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนในกลือเสริมไอโอเดตขึ้น เพื่อให้สามารถนำไปใช้ตรวจสอบปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคที่เสริมด้วยโปแตสเซี่ยมไอโอเดตได้ แม้ว่าจะอยู่ในพื้นที่ที่ห่างไกลจากห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบทำได้สะดวกให้ผลรวดเร็ว และเพื่อให้มีความมั่นใจในผลการตรวจเมื่อนำไปใช้งาน จึงได้ทำการประเมินผลการใช้ชุดทดสอบโดยส่งชุดทดสอบพร้อมตัวอย่างเกลือที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนแล้วด้วยวิธีทางห้องปฏิบัติการไปยังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 10 แห่ง จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบ พบว่าชุดทดสอบมีร้อยละของความไว (sensitivity) เป็น 96.3 ความจำเพาะของวิธี (specificity) เป็น 100.0 ค่าพยากรณ์บวก (positive predictive value) เป็น 100.0 ค่าพยากรณ์ลบ (negative predictive value) เป็น 75.0 และมีความถูกต้อง (accuracy) เป็น 96.7 ปริมาณต่ำสุดที่ชุดทดสอบนี้สามารถตรวจวัดได้คือ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีอายุการเก็บรักษานาน 12 เดือนที่อุณหภูมิห้อง ชุดทดสอบนี้สามารถนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพเบื้องต้นของเกลือเสริมไอโอเดตที่ผลิตจากโรงงาน สถานีอนามัย โรงเรียน หรือร้านค้าทั่วไป ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 153 (พ.ศ.2537) ที่ต้องมีไอโอดีนไม่น้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อให้ประชาชนโดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีอัตราการเกิดโรคขาดสารไอโอดีน สามารถได้รับสารไอโอดีนในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งจะช่วยส่งผลให้การแก้ปัญหาโรคขาดสาร ไอโอดีนของประเทศประสบผลสำเร็จได้ในระดับหนึ่ง

BSTRACT In order to strengthen the quality control system of table salt in rural area , simple test kit for semiquantitative determination of iodine content in salt was developed by Division of Food , Department of Medical Sciences. The kit could be easily used in remote area and the result could be observed rapidly. The evaluation was studied by sending the kits, accompanied with table salt with known amount of iodine to 10 Regional Medical Sciences Centers. The efficiency of the kit showed that the percentage of sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy are 96.3, 100.0, 100.0, 75.0 and 96.7, respectively. The detection limit is 2 mg/kg. and the shelf-life is about 12 months at room temperature.

The kit is one approach to solve the problem of Iodine Deficiency Disorder in Thailand.

Key words: semi- quantitative analysis , test kit, iodine, iodated salt.

บทนำ

ไอโอดีนเป็นสารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย และการพัฒนาการของสมอง จากการศึกษาความคงตัวของไอโอดีนในเกลือเสริมไอโอดีน (สินะวัฒน์ และคณะ, 2540) รายงานว่าหากได้รับไม่เพียงพอ จะก่อให้เกิดภาวะผิดปกติที่เรียกว่าโรคขาดสารไอโอดีน (Iodine Deficiency Disorders) ซึ่งมีความรุนแรง และ เกิดพยาธิสภาพหลายประการ เช่น มีคอพอกได้ในทุกอายุ ในหญิงมีครรภ์อาจทำให้คลอดก่อนกำหนด เด็กตายแรกคลอด หรือเด็กพิการ หรือปัญญาอ่อน เด็กวัยเรียนจะมีร่างกายแคระแกรน เรียนไม่ทันเพื่อน ผู้ใหญ่จะมีอาการเหนื่อยง่าย ทนอากาศหนาวไม่ได้ ความต้านทานโรคต่ำ หูตึง หัวใจโต จากการศึกษาของกรมอนามัย เรื่องแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคขาดสารไอโอดีน รายงานว่าการขาดสารไอโอดีนได้แพร่ขยายไปในหมู่ประชากรของประเทศในพื้นที่มากกว่า 54 จังหวัดของประเทศไทย ทั้งนี้ มีสาเหตุมาจากการเสื่อมลงของสภาวะแวดล้อม ทำให้พื้นดินที่เคยอุดมสมบูรณ์ไปด้วยแร่ธาตุ รวมทั้งไอโอดีนถูกทำลาย อาหารทั่วไปจึงมีปริมาณไอโอดีนน้อยมาก ถึงแม้จะมีการชะล้าง หน้าดินลงสู่แม่น้ำและทะเล ทำให้อาหารทะเลมีไอโอดีนในปริมาณสูง แต่สัตว์ทะเลมีปริมาณน้อย และมีราคาแพง ทำให้ประชาชนไม่สามารถบริโภคได้ อย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากปัญหาการคมนาคมและสภาพเศรษฐกิจ(สุคนธชาติ และ คณะ, 2536) โรคขาดสารไอโอดีนจึงจัดเป็นปัญหาสาธารณสุข และจำเป็นต้องดำเนินการแก้ไขโดยการใช้เกลือเป็นตัวกลางนำสารไอโอดีนไปสู่ประชาชน เนื่องจากเกลือเป็นสารปรุงแต่งรสที่ใช้ทั่วไปในครัวเรือน ราคาถูก การเติมไอโอดีนลงในเกลือมีขบวนการ และขั้นตอนที่ไม่ยุ่งประกอบกับความเค็มของเกลือ จะทำให้ผู้บริโภคได้รับสารไอโอดีนในระดับที่ก่อให้เกิดพิษได้ยาก (สิทธิเจริญชัย,2537) และจากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก ที่รายงานใน Recommended iodine level in salt and guidelines for monitoring their adequacy and effectiveness (Anonymous, 1996) ที่ประมาณการว่าคนทั่วไปบริโภคเกลือวันละ 5-10 กรัมและปริมาณไอโอดีนที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน คือ 100 -200 ไมโครกรัม ปริมาณไอโอดีนที่ควรเสริมในเกลือบริโภคคือ 20-40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขจึงได้ออกประกาศกระทรวง ฉบับที่ 153 (พ.ศ. 2537) กำหนดให้เกลือบริโภคเป็นอาหารที่ควบคุมคุณภาพโดยให้มีปริมาณไอโอดีนไม่น้อยกว่า 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม (พระราชบัญญัติอาหาร, 2522) เพื่อให้คนไทยมีโอกาสได้รับสารไอโอดีนในปริมาณที่เหมาะสมเป็นประจำอย่างทั่วถึง เกลือที่ผลิตในประเทศมีทั้งเกลือที่ใช้ในการบริโภค และใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งไม่ถูกควบคุมด้วยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับดังกล่าว ทำให้การควบคุมคุณภาพเกลือบริโภคเป็นไปได้ยาก จำเป็นต้องอาศัย ความร่วมมือจากผู้ผลิตให้เสริมไอโอดีนปริมาณที่เหมาะสมลงในเกลือบริโภคทุกรุ่นผลิต (Lot) โดยกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุขให้การสนับสนุน โพแตสเซี่ยมไอโอเดต และคำแนะนำในการผลิตเกลือเสริมไอโอดีนแก่ผู้ผลิตเกลือที่ขึ้นทะเบียนกับกรมอนามัย ซึ่งมีประมาณ 200 แห่ง (เหมาะเจริญ และ ศรีชัยญา, 2533) แม้ว่าโปแตสเซี่ยมไอโอเดตจะมีความคงตัวมากกว่า

โพแตสเซี่ยมไอโอไดด์ (สุวรรณิก, 2517) แต่ไอโอดีนเป็นสารที่สลายตัวได้ง่ายถ้ามีความชื้นหรือถูกแสงแดด การจัดการภายหลังการผลิต ได้แก่การบรรจุการขนส่งและการเก็บรักษาก่อนถึงมือผู้บริโภค ต้องดำเนินการอย่างถูกต้อง มิฉะนั้นจะมีผลให้ปริมาณไอโอดีนในเกลือลดลงอย่างรวดเร็ว องค์การอนามัยโลกรายงานว่าปริมาณไอโอดีนจะสูญหายไปหลังจากผลิตจนถึงมือผู้บริโภคประมาณ 25-50% จากการศึกษาปริมาณไอโอดีนของเกลือบริโภคที่เก็บจากพื้นที่ที่มีอัตราการเกิดโรคขาดสารไอโอดีนสูง จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่ามีเกลือเพียง 8 ตัวอย่าง ที่มีไอโอดีนสูงกว่า 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม (ผ่องแผ้ว และคณะ, 2539) การควบคุมปริมาณไอโอดีนในเกลือ บริโภคทั้งที่ผลิตและจำหน่ายให้มีปริมาณที่เหมาะสม ตามที่กฎหมายกำหนด จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากความไม่สมดุลย์ของจำนวนห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานด้านคุ้มครองผู้บริโภค ค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และใช้เวลานานในกระบวนการวิเคราะห์ จนถึงการรายงานผล ทำให้การควบคุมคุณภาพเกลือไม่สามารถดำเนินไปได้อย่างสม่ำเสมอและทั่วถึง กองอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้ทำการศึกษาค้นคว้าพัฒนาและผลิตชุดทดสอบไอโอดีนในเกลือเสริมไอโอเดตขึ้น เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพเบื้องต้นของเกลือบริโภคและแก้ปัญหาโรคขาดสารไอโอดีนของประชากรในประเทศ โดยใช้หลักการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน จาก วิธี Spectrophotometry (Boonamsiri et al, 1976 ; Liang et al, 1993 ; Mohamed et al, 1995; Pedriali et al, 1997 ; Tomiyasu et al, 1994) โดยมีหลักการที่ว่าในสารละลายที่มีความเป็นกรดไอโอเดตจะเป็นตัวออกซิไดซ์ เมื่อเลือกใช้สารประกอบที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสมซึ่งจะเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายให้เห็นอย่างชัดเจนตามปริมาณไอโอดีนที่มีในสารละลายนั้น ชุดทดสอบดังกล่าว สามารถใช้ในการตรวจปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคได้สะดวกรวดเร็ว

รายงานนี้ได้นำเสนอการศึกษาเพื่อประเมินคุณสมบัติและประสิทธิภาพของชุดทดสอบดังกล่าว โดยขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อให้นำผลที่ได้มาใช้พัฒนาชุดทดสอบให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น และสามารถนำไปใช้โดยบุคคลทั่วไปได้

วัสดุและวิธีการ

การศึกษาคุณสมบัติของชุดทดสอบ

อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์

ชุดน้ำยาทดสอบ 1 ชุด ประกอบด้วยน้ำกลั่นบรรจุกล่องพลาสติกใสไม่มีสี ขนาดปริมาตร 60 มิลลิลิตร ปิดฉลาก-ไอโอ ๑, สารละลายผสมของกรดซัลฟูริก บรรจุขวดพลาสติก ขนาดปริมาตร 8 มิลลิลิตร ปิดฉลาก-ไอโอ ๒, ชิ้นกระดาษชุบน้ำยารีดิวซิงค์ I จำนวน 120 ชิ้นบรรจุขวดแก้วสีชา ปิดฉลาก-ไอโอ ๓, สารประกอบรีดิวซิงค์ II บรรจุขวดแก้วสีชาขนาดปริมาตร 4 มิลลิลิตร ปิดฉลาก-ไอโอ ๔

อุปกรณ์ชุดทดสอบ ประกอบด้วย แผ่นพับ พร้อมแถบสีที่แสดงเมื่อเกลือที่ทดสอบมีไอโอดีนในปริมาณน้อยมาก (น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จนถึงมากกว่า 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม, Syringe ขนาด 2.5 มิลลิลิตร จำนวน 1 อัน, ช้อนพลาสติกสำหรับตักตัวอย่างเกลือ 10 อัน ,ขวด vial พร้อมจุกพลาสติกขนาด 2.5 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด, dropper 1 อัน, ปากคีบ 1 อัน ,

การเตรียมแถบสีมาตรฐาน

ตักเกลือบริโภคที่ตรวจไม่พบไอโอดีน 1 ช้อน ลงใน vial แล้วเติมสารมาตรฐานที่มีไอโอดีนความเข้มข้น 0, 3, 6, 9 และ 12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งเทียบเท่ากับเมื่อเกลือ 1 ช้อน (น้ำหนักประมาณ 0.3 กรัม) มีไอโอดีน 0, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมกรัมต่อกิโลกรัม ลงใน vial แต่ละขวด

แล้วหยดสารละลายไอโอ ๒ 2 หยด ใส่ไอโอ ๓ 2 ชิ้น และสารละลายไอโอ ๔ (ที่เตรียมใหม่) 1 หยด โดยทุกครั้งที่เติมสารเคมีให้เขย่า และทิ้งไว้ 1 นาที ก่อนเติมสารเคมีตัวถัดไป สังเกตสีที่ปรากฏ แล้วนำไปทำแถบสีมาตรฐานโดยใช้คอมพิวเตอร์

วิธีการตรวจด้วยชุดทดสอบ

เตรียมสารละลายไอโอ ๔ (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่จะใช้) : ใช้ syringe ดูด ไอโอ ๑ 1 มิลลิลิตรลงในขวดบรรจุไอโอ ๔ เขย่าให้ผสมกัน

การเตรียมตัวอย่าง : ตักเกลือบริโภค ที่ต้องการทดสอบ 1 ช้อน ลงใน vial แต่ละขวด , ใช้ syringe ดูด ไอโอ ๑ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน vial แล้วเขย่า การทดสอบ : หยดสารละลายจากขวด ไอโอ ๒ 2 หยด ลงในแต่ละ vial เขย่าและทิ้งไว้ 1 นาที, ใช้ปากคีบคีบชิ้นกระดาษจากขวด ไอโอ ๓ 2 ชิ้น ใส่ลงในแต่ละ vial เขย่าและทิ้งไว้ 1 นาที, ใช้ dropper ดูดสารละลายไอโอ ๔ ที่เตรียมไว้และหยดลงในแต่ละ vial ขวดละ 1 หยด เขย่า และทิ้งไว้ 1 นาที อ่านผลการประเมินปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างโดยสังเกตสีของสารละลายที่ได้เทียบกับแถบสีมาตรฐานที่แนบมากับชุดทดสอบ

การอ่านผล

สีของสารละลายไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมก่อนเติมน้ำยา ไอโอ ๔ แสดงว่าตรวจไม่พบไอโอดีนจากไอโอเดต สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเป็นสีฟ้าแกมเขียว แสดงว่ามีไอโอดีน ประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเป็นสีเหลืองคล้ำ แสดงว่ามีไอโอดีนประมาณ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเป็นสีส้มแดง แสดงว่ามีไอโอดีนประมาณ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การเตรียมสารมาตรฐานไอโอดีน (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ชั่งโปแตสเซี่ยมไอโอเดต 0.1686 กรัมในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เจือจางสารมาตรฐานไอโอดีน (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานที่ตรวจได้ด้วยชุดทดสอบ และเจือจางสารมาตรฐาน (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ให้มีความเข้มข้น 0, 3.0, 6.0, 9.0 และ 12.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการประเมินผลชุดสอบและอายุการใช้งานของชุดทดสอบ

การหาค่าต่ำสุดของปริมาณไอโอดีนที่ตรวจพบ (Limit of Detection , LOD)

ใช้เกลือที่ตรวจไม่พบไอโอดีนด้วยวิธีทางห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 1 กรัม ใส่ลงในแต่ละ vial และเติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร 1 มิลลิลิตรในแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เขย่าแล้วทำการทดสอบตามวิธีของชุดทดสอบเปรียบเทียบสีของสารละลายที่ได้ ถ้าความเข้มข้นใดเริ่มให้สีของสารละลายที่แตกต่างจากสีที่เกิดจากความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ใช้ความเข้มข้นนั้นเป็นค่าต่ำสุด

การศึกษาอายุใช้งาน

ใช้เกลือบริโภคที่ตรวจไม่พบไอโอดีน 1 ช้อน (น้ำหนักประมาณ 0.3 กรัม)ใส่ลงใน แต่ละvial แล้วเติมสารมาตรฐาน ที่มีปริมาณ ไอโอดีน 0, 3, 6, 9 และ 12 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตรแล้วทดสอบด้วยชุดทดสอบ ที่เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องโดย

เปรียบเทียบสีของสารละลายที่แต่ละความเข้มข้น กับแถบสีมาตรฐานที่แนบมากับชุดทดสอบ ถ้าสีของสารละลายที่ได้ไม่ตรงกับแถบสีแสดงว่าน้ำยาใช้การไม่ได้

การศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบ **(จินายน , 2539)**

1. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วย Potentiometric Titration (Anonymous, 1994) นำเกลือบริโภค จำนวน 82 ตัวอย่างที่วิเคราะห์โดยวิธี Potentiometric Titration แล้วพบว่ามีปริมาณไอโอดีน 0 ถึง น้อยกว่า 2 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม จำนวน 27 ตัวอย่าง 2 ถึง 10 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวน 19 ตัวอย่าง มากกว่า 10 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 4 ตัวอย่าง มากกว่า 20 ถึง 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 5 ตัวอย่าง และมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 27 ตัวอย่างมาทดสอบโดยชุดทดสอบโดยคณะผู้วิจัย

2. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ ที่ใช้โดยบุคคลภายนอก ครั้งที่ 1

ส่งชุดทดสอบ พร้อมแบบประเมินผลการใช้ชุดทดสอบ และตัวอย่างเกลือบริโภค รวม 90 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณไอโอดีน 0 ถึงน้อยกว่า 2 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม, มากกว่า 2 ถึง 10 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม และ มากกว่า 10 ถึง 20 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวนละ 10 ตัวอย่าง มากกว่า 20 ถึง 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวน 20 ตัวอย่าง และมากกว่า 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวน 27 ตัวอย่าง ไปยังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 10 แห่งเพื่อให้เจ้าหน้าที่ทำการทดสอบ ให้ข้อคิดเห็นและเสนอแนะเพื่อปรับปรุงชุดทดสอบ

3. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ ครั้งที่ 2

ส่งชุดทดสอบที่ได้พัฒนาปรับปรุงตามคำแนะนำ และข้อคิดเห็นของผู้ใช้ชุดทดสอบครั้งแรก พร้อมแบบประเมินผลการใช้ชุดทดสอบ และตัวอย่างเกลือบริโภค รวม 90 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณไอโอดีน 0 ถึง 2 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม, มากกว่า 2 ถึง 10 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม และ มากกว่า 10 ถึง 20 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวนละ 10 ตัวอย่าง, มากกว่า 20 ถึง 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวน 20 ตัวอย่าง และมากกว่า 30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม จำนวน 27 ตัวอย่าง ไปยังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 5 แห่ง และนำผลมาประเมินผลรวมกับผลที่ได้จากการทดสอบโดยคณะผู้วิจัย

ดัชนีที่ใช้ในการประเมิน

ความไว (% sensitivity) = $\frac{\text{True positive samples}}{\text{True positive samples + False negative samples}} \times 100$

ความจำเพาะ (% specificity) = $\frac{\text{True negative samples}}{\text{True negative samples + False positive samples}} \times 100$

ความถูกต้อง (% accuracy) = $\frac{\text{True positive samples + True negative samples}}{\text{All analysed samples}} \times 100$

ค่าพยากรณ์บวก (% Positive predictive value) = $\frac{\text{True positive samples}}{\text{True positive samples + False positive samples}} \times 100$

ค่าพยากรณ์ลบ (% Negative predictive value) = $\frac{\text{True negative samples}}{\text{True negative samples + False negative samples}} \times 100$

ชุดทดสอบ สามารถใช้ตรวจสอบปริมาณไอโอดีนต่ำสุด (LOD) ในเกลือบริโภค เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีอายุการใช้งานไม่น้อยกว่า 12 เดือน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบโดยคณะผู้วิจัย เปรียบเทียบกับวิธี Potentiometric Titration ในการวิเคราะห์เกลือบริโภคจำนวน 82 ตัวอย่าง เมื่อใช้ชุดทดสอบตรวจพบน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 27 ตัวอย่าง เป็น false negative 2 ตัวอย่าง และตรวจพบ ไอโอดีน มากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 55 ตัวอย่าง เป็น false positive 2 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการใช้ชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภค 82 ตัวอย่างของคณะผู้วิจัย

ปริมาณไอโอดีน (มก./ก.)	จำนวน	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณไอโอดีน (มก./กก.) โดยชุดทดสอบ				
โดยวิธี Potentiometry	ตัวอย่าง	ไม่พบ	>2 ถึง 10	>10 ถึง 20	>20 ถึง 30	>30
0- 1.9	27	25	2	-	-	-
2- 10	19	1	18	-	-	-
11- 20	4	-	-	4	-	-
21- 30	5	-	-	-	5	-
มากกว่า 30	27	1	-	-	2	24
	82	**27**	**20**	**4**	**7**	**24**

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนโดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Potentiometry)

ชุดทดสอบ	วิธี Potentiometry		จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
	>2 ppm.	<2 ppm.	
Positive	53 (TP) *	2 (FP) *	55
Negative	2 (FP) *	25 (TN) *	27
จำนวนรวม	55	27	82

* TP = True Positive, Fp = False Positive, TN = True Negative, FN = False Negative

การศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบเมื่อใช้โดยผู้ที่ไม่เคยรับการแนะนำการใช้ จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 10 แห่ง โดยใช้ ตัวอย่างเกลือที่มีปริมาณไอโอดีนตั้งแต่ไม่พบ ถึง น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีจำนวน 10 ตัวอย่างและเกลือที่มีไอโอดีนตั้งแต่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขึ้นไป มีจำนวน 80 ตัวอย่าง รวม 90 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบไอโอดีน 16 ตัวอย่าง เป็น false negative 7 ตัวอย่าง และตรวจพบ 74 ตัวอย่าง เป็น false positive 1 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4

จากการศึกษาดังกล่าวผู้ใช้ได้เสนอข้อคิดเห็นให้ปรับปรุงชุดทดสอบ โดยแจ้งว่าขวดที่ส่งไปใช้ไม่สะดวก เพราะปากขวดแคบ และสำหรับการดูผลด้วยตา ผู้ใช้ให้ความเห็นว่า การเห็นสีในโทนน้ำเงินถึงม่วงแดงไม่ชัดเจนและในแผ่นพับที่แนบมีข้อความบางตอนอ่านแล้วไม่เข้าใจ ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการปรับปรุงชุดทดสอบ โดยใช้ขวดปากกว้างที่เหมาะกับช้อนตักเกลือ ปรับอัตราส่วนสารบอกสี (indicator) ของไอโอ 3 ให้ เป็น โทนสีฟ้าแกมเขียว ถึงสีส้มแดง เพื่อให้มองเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนขึ้นเมื่อ

ตารางที่ 3 ผลการใช้ชุดทดสอบโดยเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (10 แห่ง) ครั้งที่ 1

ปริมาณไอโอดีน (มก./ก.)	จำนวน	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณไอโอดีน (มก./กก.) โดยชุดทดสอบ				
โดยวิธี Potentiometry	ตัวอย่าง	ไม่พบ	>2 ถึง 10	>10 ถึง 20	>20 ถึง 30	>30
0- 1.9	10	9	1	-	-	-
2- 10	10	7	3	-	-	-
11- 20	10	-	-	-	8	2
21- 30	20	-	-	-	1	19
>30	40	-	-	1	1	38
	90	**16**	**4**	**1**	**10**	**59**

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนที่ใช้โดยเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 1

ชุดทดสอบ	วิธี Potentiometry		จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
	>2 ppm.	<2 ppm.	
Positive	73 (TP) *	1 (FP) *	74
Negative	7 (FP) *	9 (TN) *	16
จำนวนรวม	80	10	90

* TP = True Positive, FP = False Positive, TN = True Negative, FN = False Negative

ตัวอย่างเกลือมีปริมาณ แตกต่างกัน ในช่วง 0 ถึง 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่ได้รับการพัฒนาแล้วโดยคณะผู้วิจัย และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 5 แห่ง โดยใช้ตัวอย่างเกลือที่มีปริมาณไอโอดีนตั้งแต่ไม่พบ ถึงน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 6 ตัวอย่าง และเกลือที่มีไอโอดีนตั้งแต่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขึ้นไป มีจำนวน 54 ตัวอย่าง เมื่อใช้ชุดทดสอบไม่พบไอโอดีน 8 ตัวอย่างเป็น false negative 2 ตัวอย่าง และตรวจพบ 52 ตัวอย่าง ไม่พบ false positive ดังแสดงในตารางที่ 5 และตารางที่ 6

วิจารณ์

ในการศึกษาประสิทธิภาพชุดทดสอบ การใช้ช้อนพลาสติกที่แนบมาพร้อมชุดทดสอบ ตักตัวอย่างเกลือจะให้ผลคลาดเคลื่อนไปบ้างเนื่องจากลักษณะทางกายภาพของเกลือเอง ได้แก่ขนาดของผลึกที่แตกต่างกันและการตักที่อาจตักช้อนพูนหรือพร่อง ทำให้มีความแตกต่างกันในการอ่านผล โดยเฉพาะตัวอย่างที่มีปริมาณไอโอดีนอยู่ตรงช่วงของการเปลี่ยนสีพอดีได้แก่ การตักเกลือที่มีไอโอดีน 1.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในปริมาณช้อนพูน จะ detect สีของสารละลายได้ในระดับ trace ซึ่งจะแสดงผลของ false positive และ

ตารางที่ 5 ผลการใช้ชุดทดสอบหลังการพัฒนา ของคณะผู้วิจัย และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 2

ปริมาณไอโอดีน (มก./ก.) โดยวิธี Potentiometry	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณไอโอดีน (มก./กก.) โดยชุดทดสอบ				
		ไม่พบ	>2 ถึง 10	>10 ถึง 20	>20 ถึง 30	>30
0- 1.9	6	6	-	-	-	-
2- 10	12	2	8	2	-	-
11- 20	6	-	-	4	2	-
21- 30	12	-	1	-	8	3
>30	24	-	-	1	4	19
	60	**8**	**9**	**7**	**14**	**22**

ตารางที่ 6 คุณสมบัติของชุดทดสอบปริมาณไอโอดีนที่ใช้โดยเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 2

ชุดทดสอบ	วิธี Potentiometry		จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
	>2 ppm.	<2 ppm.	
Positive	52 (TP) *	0 (FP) *	52
Negative	2 (FP) *	6 (TN) *	8
จำนวนรวม	54		60

* TP = True Positive, FP = False Positive, TN = True Negative, FN = False Negative

ในทางตรงกันข้าม ถ้าเกลือที่ตักมีปริมาณไอโอดีนมากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วตักไม่เต็มช้อน ทำให้เกิด false negative ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1, 2 และ 3 และจะเป็นไปในทำนองเดียวกันกับเกลือที่มีไอโอดีนในช่วงความเข้มข้นใกล้เคียงกับ 10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำยาไอโอ ๔ ต้องละลายใหม่ ๆ เมื่อจะใช้ไม่สามารถเก็บไว้ใช้ต่อในวันหลัง ถ้าใช้ไม่หมด ดังนั้นการวิเคราะห์แต่ละครั้งควรมีตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบไม่น้อยกว่า 20 ตัวอย่าง เพื่อให้พอดีกับน้ำยาไอโอ ๔ ที่ละลายไว้ และไอโอ ๓ เมื่อใช้แล้วให้ปิดฝาให้สนิทเพื่อไม่ให้กระดาษดูดความชื้นในอากาศเข้าไป จะทำให้สารเคมีที่เคลือบอยู่บนกระดาษเสียสภาพได้

ในตารางที่ 1 พบว่ามีตัวอย่างที่มีไอโอดีนมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ แต่ให้ false negative เมื่อใช้ชุดทดสอบ จากการพิจารณาชนิดของเกลือตัวอย่างนี้ พบว่าเป็นเกลือชนิด Low sodium salt ดังนั้นชุดทดสอบนี้จึงมีความจำกัดอีกข้อหนึ่ง คือไม่สามารถใช้ตรวจสอบไอโอดีนในเกลือที่ไม่ใช่เกลือบริโภคตามปกติ คือไม่ได้ทำจาก sodium chloride

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่ใช้โดยคณะผู้วิจัย และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 10 แห่งในครั้งที่ 1 พบว่าคณะผู้วิจัยจะสามารถใช้ชุดทดสอบ อย่างถูกต้องกว่า แต่หลังจากได้ทำการพัฒนาปรับปรุงชุดทดสอบ (ตามคำแนะนำของผู้ใช้) พบว่าเจ้าหน้าที่ของศูนย์-วิทยาศาสตร์การแพทย์สามารถใช้ชุดทดสอบได้ถูกต้องมากขึ้น เมื่อนำผลที่ได้ทั้ง 3 ครั้ง คือ เมื่อชุดทดสอบใช้โดยคณะผู้วิจัยมาคำนวณพบว่า มีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ค่าพยากรณ์บวก และค่าพยากรณ์ลบ เป็นร้อยละ 96.4, 92.6, 95.1, 96.4 และ 92.6 ตามลำดับ เมื่อส่งให้นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 10 แห่ง ใช้โดยไม่ได้รับคำแนะนำ มาคำนวณพบว่ามีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ค่าพยากรณ์บวก และ ค่าพยากรณ์ลบ เป็นร้อยละ 91.2, 90.0, 91.1, 98.6 และ 56.2 ตามลำดับ และหลังจากการพัฒนาชุดทดสอบ แล้วส่งไปยังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 5 แห่ง ซึ่งมีความคุ้นเคยกับการใช้แล้วนำมาประเมินผลการใช้

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพ ของชุดทดสอบ

ห้องปฏิบัติการ	ร้อยละ				
	ความไว	ความจำเพาะ	ความถูกต้อง	ค่าพยากรณ์บก	ค่าพยากรณ์ลบ
กองอาหาร	96.4	92.6	95.1	96.4	92.6
ครั้งที่ 1 ศูนย์ วทพ. (10 แห่ง)	91.2	90.0	91.1	98.6	56.2
ครั้งที่ 2 ศูนย์ วทพ. (5 แห่ง) และ กองอาหาร	96.3	100.0	96.7	100.0	75.0

รวมกับผลที่ได้จากนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ของกองอาหาร พบว่า มีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ค่าพยากรณ์บวก และ ค่าพยากรณ์ลบ เป็น ร้อยละ 96.3, 100.0, 96.7, 100.0 และ 75.0 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7

ชุดทดสอบนี้ใช้หลักการว่า ไอโอเดตในสารละลายที่มีความเป็นกรดจะถูกรีดิวซ์ เมื่อทำปฏิกิริยากับตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสม สีของสารละลายจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณไอโอดีนที่มีในสารละลาย ดังนั้นจึงใช้สำหรับการตรวจสอบปริมาณ ไอโอดีนในเกลือบริโภคที่เสริมด้วยโปแตสเซี่ยมไอโอเดตเท่านั้น ไม่สามารถตรวจไอโอไดด์ได้ เนื่องจากในสารละลายไอโอ ๒ ที่มีฤทธิ์เป็นกรด ไอโอเดต (IO_3) จะทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์ รับอีเลคตรอนจากตัวรีดิวซิงค์ไอโอ ๓ และไอโอ ๔ กลายเป็นไอโอดีน ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ indicator ที่เหมาะสมให้สีแตกต่างกันตามปริมาณไอโอดีนที่มีในตัวอย่างนั้นๆ แต่เกลือที่เสริมด้วยโพแตสเซี่ยมไอโอไดด์ จำเป็นต้องทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation ก่อนอีก 1 ขั้นเพื่อเปลี่ยนไอโอไดด์ให้เป็นไอโอเดต แล้วจึงจะใช้ชุดทดสอบนี้ได้ ซึ่งจะทำให้ชุดทดสอบมีความซับซ้อนมากขึ้นแต่อย่างไรก็ตามชุดทดสอบนี้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ได้ เพราะการรณรงค์เพื่อแก้ปัญหาโรคขาดสารไอโอดีนตั้งแต่ พ.ศ. 2517 ได้ใช้โปแตสเซี่ยมไอโอเดตเสริมทั้งในน้ำดื่มและเกลือ เนื่องจากประเทศไทยมีภูมิอากาศร้อนชื้น การใช้โปแตสเซี่ยมไอโอเดตจะมีความคงตัวมากกว่าการใช้โปแตสเซี่ยมไอโอไดด์ และจากการตรวจวิเคราะห์เกลือบริโภคของกองอาหาร ตั้งแต่ พ.ศ. 2538 ถึง พ.ศ. 2540 จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่ามีเพียง 2 ตัวอย่างที่พบไอโอไดด์ ซึ่งตัวอย่างดังกล่าวผู้ผลิตเป็นผู้นำส่งเมื่อ พ.ศ. 2538 และต่อมาในปี พ.ศ. 2540 ได้รับตัวอย่างจากผู้ผลิตเดิม พบว่าได้เปลี่ยนมาใช้โปแตสเซี่ยมไอโอเดตแทนการใช้โปแตสเซี่ยมไอโอไดด์แล้ว

ในการใช้ชุดทดสอบเพื่อตรวจหาปริมาณไอโอดีนที่น้อยกว่า30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สีที่ปรากฏแม้จะมีเฉดสีที่ต่างกันตั้งแต่ไม่มีสี สีฟ้าแกมเขียว สีเหลืองคล้ำ จนถึง สีส้มแดง ซึ่งต้องอ่านผลหลังจากเติมไอโอ ๔ แล้ว ประมาณ 1-2 นาที การแปลผลบอกได้เป็นช่วง ๆ ตามแถบสี การวิเคราะห์มีขั้นตอนจากการประมาณการตั้งแต่การใช้ช้อนพลาสติก แทนการชั่งน้ำหนัก ดังนั้น ตัวอย่างใดที่ต้องการผลการตรวจวิเคราะห์ที่แน่นอนจำเป็นต้องส่งเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจยืนยันผล แต่ในการควบคุมคุณภาพเกลือบริโภคนั้นมีนโยบายเพื่อการส่งเสริมไม่ได้มีมาตรการการลงโทษ การใช้ชุดทดสอบจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สามารถนำมาใช้ตรวจสอบคุณภาพของเกลือทั้งจากแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่ายให้ทั่วถึงได้เพราะมีความเร็วและใช้งบประมาณน้อยกว่าการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

สรุป

ชุดทดสอบนี้เหมาะสมที่จะนำมาใช้เพื่อควบคุมคุณภาพเกลือก่อนการจำหน่ายของโรงงานขนาดเล็กหรือแหล่งผลิตที่ไม่มีเครื่องมือในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน หรือเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพเกลือที่วางจำหน่ายในร้านขายซึ่งอยู่ในพื้นที่ห่างไกลจากห้องปฏิบัติการ โดยชุดทดสอบนี้สามารถใช้ได้ง่ายมีความรวดเร็ว ถูกต้อง ความไวและความจำเพาะ อยู่ในเกณฑ์ดี ราคาไม่แพง ผู้ใช้สามารถใช้ชุดทดสอบได้โดยไม่ต้องการอบรมพิเศษ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณสุดา เมธารณรัตน์ คุณสุภัทรา อิ่มเอิบ Mr. Toshiyuki Kawaguchi คุณจุไรรัตน์ รุ่งโรจนรักษ์ และ รศ.แพทย์หญิงสมพงษ์ จินายน ที่ได้กรุณาช่วยเหลือ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ยิ่ง และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์

10 แห่ง ที่ให้ความร่วมมือในการใช้ชุดทดสอบ ทำให้การศึกษาครั้งนี้ สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

โกมลเสวิน น, ร่วมจิต ส, โพธิสารณ์ ส. และคณะ. โครงการศึกษาปริมาณไอโอดีนในเกลือสมุทร. กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา 2537 ; 29 หน้า

จินายน ส. หลักการประเมินผลคุณสมบัติของเทคนิควิเคราะห์สำหรับห้องปฏิบัติการเคมีคลีนิก กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ตีรณสาร. 2529 ; 279 หน้า

ผ่องแผ้ว ป, ตั้งตรงจิตร ร, ศุภวันต์ ว และคณะ. ปริมาณสารไอโอดีนในเกลือไอโอดีนที่ผลิตจำหน่ายในพื้นที่ที่มีอุบัติการของโรคขาดสารไอโอดีนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. อาหาร. 2539 ; 26(2) : 108-117

พัฒนจักร ส, พัฒนจักร ฉ, จงจิระศิริ ศ. คู่มือการผลิตขวดเดี่ยวเสริมไอโอดีนขวดแฝดตรวจไอโอดีน. แผนกพิมพ์โรงพยาบาลศิริราช. คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล. 2532 ; 51 หน้า

พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 153 (พ.ศ. 2537) เรื่อง เกลือบริโภค ออกตามความในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 111 ตอนพิเศษ 15 ง ลงวันที่ 18 มีนาคม 2537

สินะวัฒน์ ส, เหมาะเจริญ น, ศรีชัยยา จ และ คณะ. รายงานการศึกษา เรื่องการศึกษาความคงตัวของไอโอดีนในเกลือเสริมไอโอดีนและน้ำเสริมไอโอดีน กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2540 ; 50 หน้า.

สุคนธชาติ ว, หลาวทอง อ, สามิบัติ จ และ คณะ. แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคขาดสารไอโอดีน กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 2536 ; 54 หน้า

สุวรรณิก ร, พิศลยบุตร อ, นนทสุต อ และคณะ. โรคคอพอกและการใช้เกลือไอโอเดตป้องกันและรักษาในจังหวัดแพร่ ประเทศไทย. วารสารคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ. 2517 ; 6 (1) : 1 - 22

เหมาะเจริญ น และ ศรีชัยยา จ. แนวทางการผลิตเกลือเสริมไอโอดีนในส่วนกลาง การอนามัยและสิ่งแวดล้อม. 2533 ; 13 (1) : 15- 19.

Anonymous. Iodide Content in Diet-/Mineral- Salt by Potentiometric Titration. Application Bulletin Metrohm. 1994 ; (1-688-0594. May, 2)

Anonymous. Recommended Iodine Levels in Salt and Guidelines for Monitoring Their Adequacy and Effectiveness. WHO/NUT/96.13. Distr.: general . 1996 : p. 2

Boonamsiri, V, Noi-Snga, S, Suwanik, R. A Simple Method for Analysis of Iodine in Iodated Salt. J Med Ass Thailand. 1976 ; 59(1) : 47

Liang B, Kawakubo, S, Iwatsuki M, et al Catalytic Determination of Iodide by a maximum Absorbance Method Using the Oxidation Reaction of Chlormazine with Hydrogenperoxide. Anal Chm Acta 1993; 282(1) :87-94.

Mohamed A, Iwatsuki M , El-Shahat F, et al. Catalytic Determination of Iodide Using The Prometazine- Hydrogen peroxide Redox Reaction. Analyst. 1995 ; 110 :1201-1204.

Pedriali R, Giuliani E , Margutti A, et al. Iodine Assay in Cow Milk . Industrial Treatments and Iodine Concentration. Ann Chim (Rome) 1997; 87(7-8) : 449-456

Tomiyasu T, Sakamoto H, Yonehara N. Differential Determination of Iodate and Iodide by a Kinetic - Catalytic Method . Anal Sci 1994 ; 10(2) : 293-297.