



**MÉTODO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN
MOLECULAR VISIBLE PARA LA DETERMINACIÓN DE YODURO
EN MUESTRAS DE ORINA**

Pedro Matheus¹, Mary Flores¹, Ana Bello¹, Olga Belandria¹.

- 1. Laboratorio de Análisis Instrumental. Departamento de Análisis y Control. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.**

Autor Corresponsal: Pedro Matheus. Avenida 16 de Septiembre, Campo Universitario Campo de Oro, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. Teléfono: 0274-2403438.

Email: pmateus@ula.ve

RESUMEN

Se realizaron determinaciones de yoduro en muestras de orina matinal de individuos (34 mujeres y 26 hombres) de entre 19 a 26 años, pertenecientes a una población de estudiantes de la Universidad de Los Andes (Mérida-Venezuela). Las determinaciones de yoduro se realizaron utilizando Espectrofotometría de Absorción Molecular Visible a longitudes de onda de 450 nm con o-fenilendiamina (OPD) y 650 nm con bencidina como cromógenos a diferentes concentraciones de yoduro y a diferentes tiempos de reacción (lectura), siendo seleccionado el OPD y un tiempo de 1 minuto, por ofrecer mejor respuesta en el espectro de absorción. La metodología utilizada para la cuantificación de los niveles de yoduro en orina se basó en la preparación de curvas de calibración

mediante la obtención de medidas de absorbancia en función de la concentración de yoduro en muestras patrones. Por interpolación en estas curvas, se pudo obtener la concentración de yoduro para cada muestra de orina analizada. Los resultados obtenidos indican que es posible medir concentraciones de yoduro en valores clínicamente normales (0,5-1,5 $\mu\text{g/mL}$) siendo el método utilizado de una alta confiabilidad. Para avalar los resultados obtenidos, se determinaron algunos parámetros estadísticos entre los que podemos mencionar límite de detección (LOD) 0,000034 $\mu\text{g/mL}$, límite de cuantificación (LOQ) 0,00011 $\mu\text{g/mL}$, coeficiente de variación (CV) 1,20%, desviación estándar (DS) 0,000002036, coeficiente de correlación (r) 0,99708 y coeficiente de determinación (r^2) 0,99917 $\mu\text{g/mL}$.

PALABRAS CLAVE: yodo, yoduro, orina, o-fenilendiamina, bencidina.

METHOD FOR MOLECULAR VISIBLE ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY FOR DETERMINATION OF IODIDE IN URINE SAMPLES

ABSTRACT

Iodide determinations were performed on urine morning samples from individuals (34 women and 26 men) aged 19 to 26 years, belonging to a population of students from the Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela). Determinations iodide were performed using visible molecular absorption spectrophotometry, wavelengths of 450 nm with o-phenylenediamine (OPD) and 650 nm with benzidine as chromogens at different concentrations of iodide and different reaction times (read), being selected OPD and a time of 1 minute, to provide better answer in the absorption spectrum. The methodology for quantifying the

levels of iodide in urine preparation was based on calibration curves obtained by measurements of absorbance against concentration of standard samples iodide. By interpolation in these curves, it was possible to obtain the concentration of iodide for each tested urine sample. The results indicate that it is possible to measure concentrations of iodide in clinically normal values (0.5-1.5 mg/mL) being the method of high reliability. To support these results, some statistical parameters among which we mention: limit of detection (LOD) 0.000034 $\mu\text{g/mL}$, limit of quantification (LOQ) 0.00011 $\mu\text{g/mL}$, coefficient of variation (VC) 1.20%, standard deviation (SD) 0.000002036, correlation coefficient (r) 0.99708 and coefficient of determination (r^2) 0.99917 $\mu\text{g/mL}$.

KEYWORDS: iodine, iodide, urine, o-phenylenediamine, benzidine.

INTRODUCCIÓN

La tiroides es una de las glándulas más importantes del cuerpo humano. La disfunción de la glándula tiroides da lugar a algunos trastornos endocrinos frecuentes como el hipertiroidismo (exceso de hormonas tiroideas) y el hipotiroidismo (deficiencia de hormonas tiroideas). Esta disfunción de la tiroides se manifiesta clínicamente por una hinchazón (agrandamiento) de la glándula, estado al que se conoce como *bocio*. Otros desordenes comunes son el hipertiroidismo de

Graves, hipotiroidismo de Hashimoto y disfunciones tiroideas post-parto (1-3). La tiroides es secretora interna de hormonas especialmente las hormonas T3 y T4 de alto contenido en yodo, lo que hace que el yodo sea el elemento esencial de las hormonas segregadas por la tiroides. Un nivel bajo de las hormonas tiroideas, hace que disminuya la transformación de energía, de proteínas, grasas y carbohidratos; también retarda el desarrollo mental y corporal de los niños, disminuye la capacidad física e intelectual de los adultos, altera el

funcionamiento de los órganos reproductores, así como también la producción de insulina(4). El yodo ingresa con la alimentación en forma de sales yodadas, como yodo inorgánico, al llegar al tracto gastrointestinal es transformado en yoduro y absorbido. Una vez en la sangre, el yoduro sigue dos posibles destinos: el 80% es filtrado por el riñón y excretados en la orina, y el otro 20% es captado por la tiroides. La ingesta mínima diaria de yodo que mantiene la función tiroidea normal es de 150 μg en los adultos, aunque en EUA la ingesta diaria promedio es cercana a 500 μg (5,6). La cantidad de yodo eliminada por el riñón (480 μg) es apenas discretamente inferior a la cantidad total ingerida lo que indica la poca cantidad de éste, que es eliminado por otras vías (7). En condiciones normales la concentración de yoduro en sangre oscila entre 20 y 40 $\mu\text{g}/\text{dL}$. Los valores de referencia reportados para las concentraciones de yoduro urinario oscilan entre 0,5 y 1,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (8,9). La orina por ser uno de

los fluidos resultante del metabolismo del cuerpo, es lógico que se prefiera analizarla, ya que ofrece una gran información sobre muchas enfermedades mediante la eliminación de sustancias tóxicas producidas por el metabolismo celular o la ingesta de drogas, el control hidrosalino y del equilibrio ácido-base. La fácil obtención de la muestra es también otra razón para hacer del análisis de orina una prueba fundamental al alcance de cualquier médico general o especializado(10). Son diversos los métodos utilizados para la determinación del yodo urinario, entre los que podemos mencionar: yoduro como un método catalítico (técnica de computo catalítica, técnica de cálculo de curva cinética, técnica de detección catalítica, técnicas catalíticas mixtas), métodos de triyoduro o yodometría (método de Custer y Natelson, método de Shahrokh y Chesbro, método del ácido clorhídrico). Existen otros métodos tales como el método colorimétrico, basado en las reacciones de Sandell-

Kolthoff y evaluada por Dubravcic (1.955), que consiste en la determinación de yoduro usando su efecto catalítico sobre la reacción redox entre Ce^{+4} y As^{+3} en medio ácido (11). Así mismo se encuentra el método electroquímico, menos utilizado que los anteriores pero con buena sensibilidad y selectividad (8,12-14). En el presente trabajo se desarrolla un método basado en la Espectrofotometría de Absorción Molecular Visible(15) para determinar los niveles de yoduro en muestras de orina de individuos (34 mujeres y 26 hombres) de entre 19 a 26 años, pertenecientes a una población de estudiantes de la Universidad de Los Andes (Mérida-Venezuela), utilizando como cromógenos o-fenilendiamina (OPD) a 450 nm y bencidina a 650 nm (ambos en etanol al 98%) a diferentes concentraciones de yoduro y a diferentes tiempos de reacción (lectura).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de soluciones patrón:

Partiendo de una solución madre de 25 $\mu\text{g/mL}$ de yoduro de potasio (LAB-LINE, 99,5% de pureza), se prepararon 8 soluciones de KI desde 0,5 hasta 4,0 $\mu\text{g/mL}$.

Dilución de patrones:

Se colocó en un frasco ámbar, 1 mL de cada solución patrón de KI (por separado) y se le agregaron 4 mL de solución de depresores [2,95g. de ácido cítrico (M & B, 99,5 % de pureza) y 1,10g. de hidróxido de sodio (Merck, 99% de pureza) en 250 mL de ácido clorhídrico al 16% de pureza (IQE)] a cada una.

Barrido espectral con o-fenilendiamina (OPD):

Se preparó una solución patrón a 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de KI y se realizó un barrido espectral utilizando OPD (BDH) como cromógeno desde 400 nm hasta 650 nm, obteniendo la máxima absorbancia a 450 nm.

Barrido espectral con bencidina:

Con el mismo patrón (2,5 $\mu\text{g/mL}$ de

KI) se realizó un barrido espectral utilizando bencidina (Merck) como cromógeno desde 450 hasta 700 nm, obteniendo la máxima absorbancia a 650 nm.

Preparación de la curva de calibración con los patrones sin tratamiento de carbón activado:

Se mezcló el patrón diluido en frasco ámbar, con 200 µL de cromógeno (OPD o bencidina), 1 gota de ácido acético 2,5% (Ind. Química ERBA) y 200 µL de peróxido de hidrógeno 12% p/v (PANREAC QUÍMICA, S. A), para luego proceder a su lectura en un espectrofotómetro JENWAY 6310.

Selección del tiempo de lectura:

Para la selección del tiempo de lectura, se procesaron los patrones de KI y sus lecturas se realizaron a los 30 segundos, 1 minuto y 2 minutos. Posteriormente comparando las absorbancias obtenidas en cada tiempo de lectura, se seleccionó 1 minuto como tiempo óptimo.

Selección del cromógeno: Se compararon las curvas de calibración obtenidas con OPD y con bencidina, seleccionándose como cromógeno OPD debido a que se pudo observar una señal mejor definida y mayores valores de absorbancia a medida que aumenta la concentración de la solución patrón. Con la bencidina se obtuvieron absorbancias muy bajas para las diferentes concentraciones de solución patrón.

Preparación de la curva de calibración previo tratamiento de los patrones con carbón activado:

Se tomaron 3 tubos de ensayo para cada uno de los patrones, se agregó 1 mL de patrón y 4 mL de solución de depresores a cada tubo. A esta solución se le agregó 0,347g. de carbón activado. Se procedió a mezclar por 30 s. en un mezclador Vortex, modelo VM-1000, para luego colocar la mezcla en la centrífuga a 2.700 rpm por 5 minutos. Luego se filtró cada muestra patrón y se colocó en frasco ámbar.



Lectura de los patrones para la curva de calibración: A cada solución patrón se le agregó 200 μL de OPD 2,5 mM, 1 gota de ácido acético 2,5% y 200 μL de peróxido de hidrógeno al 12% p/v, para luego proceder a su lectura en espectrofotómetro JENWAY 6310 a 450 nm.

Recolección de muestras: Se recolectaron 60 muestras de orina de 60 pacientes elegidos al azar pertenecientes a una población de estudiantes de la Universidad de Los Andes. Las muestras consistieron en orina en ayunas (eliminando el primer chorro). A los donantes se les aplicó una encuesta relacionada con sus hábitos alimenticios, estilo de vida, antecedentes patológicos, etc. A cada uno se le entregó las recomendaciones apropiadas para la toma de muestra, junto con el recolector de orina, firmando el correspondiente consentimiento jurado como participantes de la investigación.

Tratamiento de la muestra de orina: A cada muestra recolectada se le midió el pH antes y después de su tratamiento. Las muestras fueron analizadas por triplicado colocando 1 mL de muestra en cada tubo, 4 mL de solución de depresores y 0,347g. de carbón activado. La solución fue mezclada en un Vortex modelo VM-1000 por 30 s. para luego ser llevada a la centrifuga a 2.700 rpm durante 5 minutos. Cada muestra fue pasada por papel filtro y el filtrado obtenido colocado en un frasco ámbar para su posterior lectura.

Lectura de las muestras de orina: Para la lectura de las muestras de orina se colocó en cada frasco, 200 μL de OPD 2,5 mM, 1 gota de ácido acético 2,5% y 200 μL de peróxido de hidrógeno al 12%. La lectura de las absorbancias se realizó a temperatura ambiente al minuto de reacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectro de absorción para determinación de la longitud de onda y del cromógeno: Se realizó un barrido espectral con patrón de yoduro de potasio 2,5 $\mu\text{g/mL}$ para cada cromógeno, entre longitudes de onda comprendidas entre 400 y 650 nm (para OPD), obteniéndose un pico de máxima absorción (0,040) a 450 nm (ver figura 1). Así mismo, se realizó un barrido espectral entre

450 y 700 nm (para la bencidina), obteniéndose un pico de máxima absorción (0,012) a 650 nm (ver figura 2). A partir de estos resultados se seleccionó el cromógeno OPD debido a que evidenció una reacción colorimétrica más intensa (mayor absorbancia), además de una mejor señal analítica a una longitud de onda más baja (450 nm) dentro del espectro electromagnético correspondiente al visible.

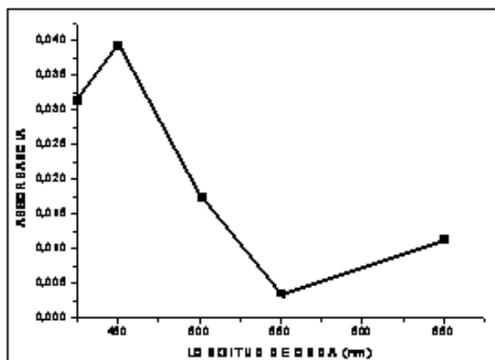


Figura 1. Absorbancias obtenidas con OPD 2,5 mM a diferentes longitudes de onda. Concentración del patrón de yoduro de potasio 2,5 $\mu\text{g/mL}$. Tiempo de reacción: 1 minuto.

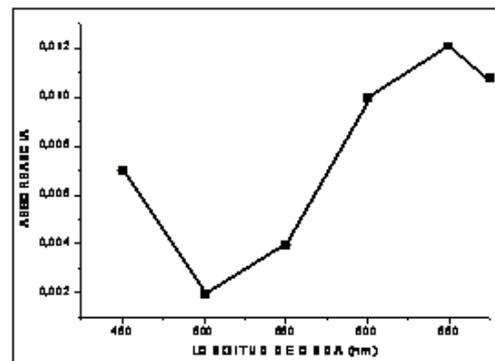


Figura 2. Absorbancias obtenidas con bencidina 2,5 mM a diferentes long. de onda. Concentración del patrón de yoduro de potasio 2,5 $\mu\text{g/mL}$. Tiempo de reacción: 1 minuto.

Optimización del tiempo de reacción (lectura): Para optimizar el tiempo de lectura, se utilizaron patrones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 y 4,0 $\mu\text{g/mL}$ de yoduro de

potasio, a los cuales se les realizaron 3 lecturas consecutivas, en periodos de tiempo de 30 segundos [trazo (a)], 1 minuto [trazo (b)] y 2 minutos [trazo (c)] (ver figura 3). En esta

figura, se puede observar que en el periodo de lectura de 1 minuto [trazo (b)] existe un aumento progresivo de la absorbancia además de una mejor respuesta ante el aumento de la

concentración de yoduro, por lo cual se utilizó este tiempo tanto para los patrones de la curva de calibración como para las muestras de orina.

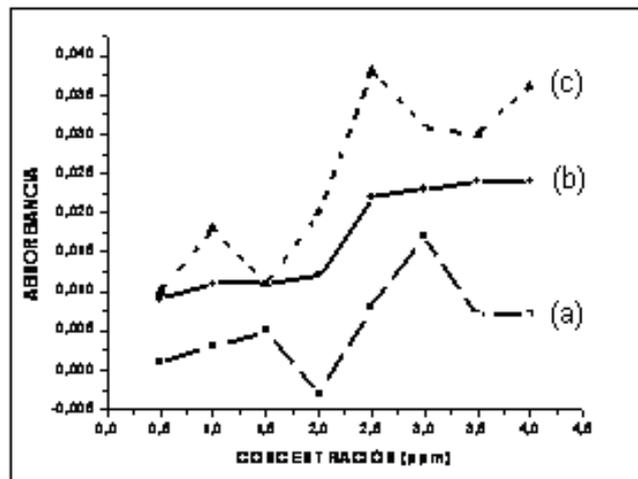


Figura 3. Absorbancias obtenidas a distintas concentraciones de yoduro de potasio a tiempos de lectura de: (a) 30 segundos. (b) 1 minuto. (c) 2 minutos. Cromógeno: OPD 2,5 mM.

Curva de calibración sin tratamiento de carbón activado: Se realizó una curva de calibración utilizando como cromógeno OPD 2,5 mM y 1 minuto de tiempo para su lectura. Dicha curva puede apreciarse en la figura 4, a partir de este resultado ($R= 0,87531$) se procedió a tratar los patrones con carbón activado para ver si se obtenía una mejor linealidad del método, tratando

cada solución patrón de la misma manera que las muestras de orina.

Curva de calibración previo tratamiento con carbón activado: Para preparar esta curva se utilizaron concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 y 4,0 µg/mL de yoduro de potasio. A cada solución se le agregaron 4 mL de solución de depresores y 0,347g. de carbón

activado. Se mezcló por 30 segundos y se centrifugó durante 5 minutos a 2.700 rpm, para luego ser filtrada y llevada a un frasco ámbar para su posterior lectura. En la figura 5 se presentan las absorbancias obtenidas para cada concentración de solución patrón, previa resta de la absorbancia del blanco. En esta figura se observa una regresión lineal de 0,99708, lo que proporciona mayor confiabilidad del método a partir de una absorbancia de 0,05. Además podemos decir que el método posee

un límite de detección de 0,5 $\mu\text{g/mL}$, por ser la cantidad mínima detectada en un rango aceptable de confiabilidad. Esto es importante ya que el valor de 0,5 $\mu\text{g/mL}$ se encuentra en el límite inferior de los valores de referencia reportados (0,5–1,5 $\mu\text{g/mL}$). También se observó que existe linealidad entre 0,5 y 4,0 $\mu\text{g/mL}$ de concentración, estableciéndose que existe una confiabilidad de los resultados obtenidos en el intervalo estudiado.

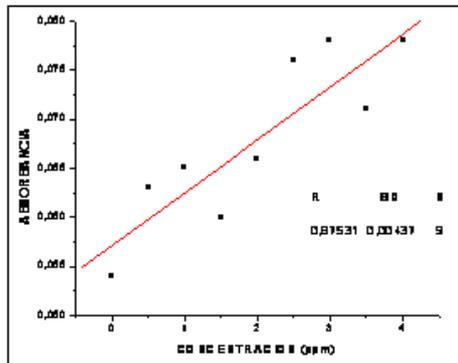


Figura 4. Curva de calibración sin tratamiento con carbón activado.

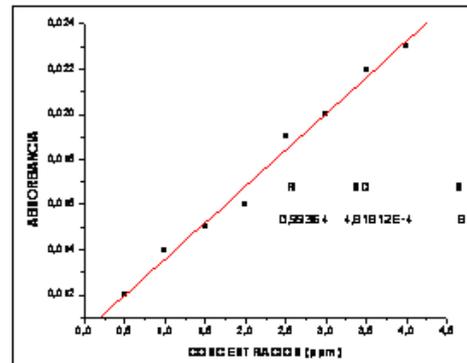


Figura 5. Curva de calibración previo tratamiento con carbón activado.

Linealidad: Para establecer la linealidad del método en la determinación de yoduro en los patrones preparados con yoduro de potasio comercial, se fijó el intervalo

de concentraciones (desde 0,0 hasta 4,0 $\mu\text{g/mL}$) en el cual el sistema cumple con la Ley de Beer (Absorbancia \propto Concentración). De acuerdo con la bibliografía

consultada (16), la linealidad debe ser establecida mediante una inspección visual, debiendo observarse que el comportamiento de la respuesta analítica está relacionada de manera directamente proporcional con las concentraciones del analito. En nuestro caso, las absorbancias (respuesta analítica) se relacionan de manera directamente proporcional con la concentración de yoduro durante todo el intervalo de concentración estudiado. La relación entre absorbancia y concentración de yoduro se encuentra representada en la figura 5. La relación entre absorbancia y concentración se expresa matemáticamente con la ecuación de una recta ($Y = mX + b$), donde X es la concentración en $\mu\text{g/mL}$, Y es la respuesta del instrumento (absorbancia), m el valor de la pendiente y b el punto de corte. Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta trazada, significa que la linealidad no es buena o que hay un error experimental importante y los

intervalos de confianza serán amplios (17).

Evaluación Estadística de la

Linealidad: La evaluación de la linealidad implica, además de la gráfica, su comprobación estadística. Existen varias formas estadísticas de comprobar si un método es lineal, entre las que podemos mencionar: el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2), el análisis de varianza, el test de proporcionalidad (*t de student*) y el test de linealidad (coeficiente de variación). Tomando en consideración que el coeficiente de correlación de la regresión lineal debe estar entre 0,98 y 1,00 y el coeficiente de determinación debe ser mayor a 0,95, ambos coeficientes fueron determinados utilizando el programa estadístico excel 2010, obteniéndose los siguientes resultados: $r = 0,99708$ y $r^2 = 0,99917$. Los resultados obtenidos indican que el modelo ajustado es capaz de explicar la respuesta (en nuestro caso, absorbancia) a partir

del uso de la variable concentración, de manera que el intervalo de concentración comprendido entre 0,0 $\mu\text{g/mL}$ y 4,0 $\mu\text{g/mL}$, satisface las condiciones de linealidad del método analítico, ya que se cumplen los requerimientos de un coeficiente de determinación igual o mayor a 0,999. Debido a que la información obtenida mediante el cálculo de r es limitada y no justifica por sí sola la linealidad, y siendo el coeficiente de determinación (r^2) el que aporta una mayor significación estadística (ya que expresa la proporción de la variación total de la absorbancia explicada por el modelo), se determinó dicho coeficiente obteniéndose un valor $r^2 = 0,99917$, lo que explica casi un 99,92% de las variaciones de la absorbancia a través del ajuste por medio de las concentraciones.

Ecuación de la recta: Una vez preparada la gráfica, a partir de la recta obtenida se estimaron el intercepto ($b = -0,0117$) y la pendiente [$m = 0,176$ ($\mu\text{g/mL}$)-1]. De acuerdo con esto, la

ecuación de la recta ajustada es $Y = 0,176X - 0,0117$. Por otro lado, el análisis de varianza permite determinar que el valor F calculado es mayor que el valor F crítico (valores no reportados), indicando que el modelo lineal se ajusta para la relación entre absorbancia y concentración con un nivel de significancia del 5%. También se comprobó la significación del intercepto con respecto al cero a través de la prueba de t -student. El intercepto de la recta de ajuste está cercano a cero, al aplicársele la prueba de t -student se obtuvo un valor de t experimental bastante menor que el valor de t tabulado ($t_{\text{exp}} = 0,0378773$; $t_{\text{tab}} = 0,978123153$) para una probabilidad del 95% y 5 grados de libertad, lo que permitió establecer que no existen diferencias estadísticamente significativas, quedando así demostrada la proporcionalidad del sistema. Mediante la prueba de linealidad se calculó el coeficiente de variación total de los factores de respuesta, el cual fue inferior al 5% (1,2030%), estableciendo este valor como límite indicativo de linealidad. Esto muestra que la pendiente es distinta de cero e indica la acertada linealidad

en el intervalo de trabajo estudiado. Estos resultados también mostraron una media para el factor de frecuencia (Y/X) igual a 0,166 ($\mu\text{g/mL}$)-1 y una desviación estándar de 0,001997. Las concentraciones utilizadas oscilan entre 0,5 y 4,0 $\mu\text{g/mL}$. En conclusión podemos decir que todos los datos y test estadísticos anteriormente expuestos, indican que el análisis realizado es lineal en el rango establecido.

Límite de Detección y Límite de Cuantificación: Experimentalmente el límite de detección (LOD) se determina con la ecuación: $\text{LOD} = 3 \text{ DS}/m$; DS indica la desviación estándar y m la pendiente de la recta. El límite de cuantificación (LOQ) también llamado límite de determinación, se determina con la ecuación: $\text{LOQ} = 10 \text{ DS}/m$. En este trabajo determinamos el LOD y el LOQ a partir de la medición de absorbancia para un total de 20 muestras-blancas, las cuales fueron medidas a lo largo del tiempo que duró la investigación. Las lecturas de

absorbancia para dichas muestras fueron realizadas por triplicado. Utilizando la pendiente de la curva de regresión para los respectivos cálculos, se obtuvieron los siguientes resultados: Absorbancia promedio = -0,01; Pendiente = $0,176 (\mu\text{g/mL})^{-1}$; $\text{DS} = 0,0000020$; $\text{LOD} = 0,000034 \text{ g}\mu/\text{mL}$; $\text{LOQ} = 0,00011 \text{ g}\mu/\text{mL}$. En conclusión, como el LOD indica la mínima cantidad de analito que puede ser determinada por el análisis realizado, mientras que el LOQ define la mínima cantidad de analito que el equipo puede detectar y expresar con cierta confiabilidad a bajas concentraciones, y como ambos parámetros indican mediciones del analito a bajas concentraciones tomando en cuenta la pendiente de la curva, se verifica de esta manera la sensibilidad en el análisis.

Exactitud y Precisión: No fue posible establecer concordancia entre los valores de yoduro obtenidos en las diferentes muestras de orina (valores reales) y los valores

realmente existentes por no disponer de estos valores, por tal motivo no podemos expresar opinión con respecto a la exactitud del método. Para expresar la precisión en forma numérica, se puede utilizar la desviación estándar (DS), el coeficiente de variación (CV) y la desviación estándar relativa (RSD). La DS calculada fue igual a 0,0000020, el CV total obtenido 1,2030% y la RSD se puede calcular dividiendo la DS entre el valor promedio de las absorbancias. Así, $RSD = DS / Abs_{(promedio)} = 0,0000020 / 0,01 = 0,000020$. De acuerdo a los resultados se puede decir que existe una altísima precisión ya que se obtuvo un valor para DS igual a 0,0000020, el cual se encuentra 10^6 veces por debajo de los parámetros establecidos (18,19), que establecen una $DS = \pm 2$.

Muestreo: Se recolectaron 60 muestras (n) de orina matinal (al azar) de individuos (34 mujeres y 26 hombres) pertenecientes a una población de estudiantes de la

Universidad de Los Andes en Mérida-Venezuela, en edades comprendidas entre 19 y 26 años, cursantes de la Asignatura Fisicoquímica en el Curso Intensivo 2012. El número de inscritos en dicha asignatura fue una población de 188 estudiantes (N), por lo tanto la fracción de muestreo (f) será: $f = n/N = 60/188 = 0,3191$ es decir, se muestreó aproximadamente el 32% de la población. Por lo tanto el factor de elevación (E) será: $E = N/n = 188/60 = 3,13$. Esto indica que cada estudiante representa aproximadamente a 3 de sus compañeros. El muestreo realizado en este trabajo se denomina muestreo probabilístico aleatorio, debido a que cada muestra tiene la misma probabilidad de ser elegida.

Niveles de yoduro en las Muestras de Orina: Finalmente, una vez calculados los diferentes parámetros estadísticos, se procedió a determinar las concentraciones de yoduro en las muestras de orina, por interpolación en la curva de calibración (figura 5).

Analizando los resultados obtenidos, podemos decir que de un total de 60 muestras (34 mujeres y 26 hombres), el 67,65% de las mujeres y el 73,08% de los hombres presentan niveles de yoduro dentro de los valores normales (0,5-1,5 $\mu\text{g/mL}$); el 23,53% de las mujeres y el 19,23% de los hombres presentan niveles de yoduro por debajo de los valores normales (hipoyoduria) y finalmente el 8,82% de las mujeres y el 7,69% de los hombres presentan hiperyoduria (niveles de yoduro por encima de los valores normales). En conclusión, un 70% de toda la población estudiada se encuentra dentro de los valores normales de yoduro en orina y sólo un 8,33% presenta valores de hiperyoduria.

CONCLUSION

La metodología utilizada en el tratamiento de las muestras de orina y la posterior detección y cuantificación del yoduro en dichas muestras, permitió medir niveles de yoduro a valores clínicamente

normales (0,5-1,5 $\mu\text{g/mL}$). Esto nos indica que la metodología utilizada fue además de sencilla, específica y selectiva para el analito de interés, siendo de suma importancia el hecho de obtener niveles de yoduro en orina de manera directa y no a través de medidas de las hormonas T3 y T4, las cuales se miden en suero (utilizada con mayor frecuencia). Con respecto al análisis estadístico, los resultados mostraron: buena sensibilidad y selectividad, buena linealidad en el intervalo de concentración establecido (0,0 a 4,0 $\mu\text{g/mL}$) y una altísima precisión, en conclusión, una alta confiabilidad en la metodología utilizada. Si bien es cierto que la metodología utilizada para la determinación de yoduro en orina ya existe en la bibliografía consultada (9,15), también es cierto que fue necesario hacer algunas modificaciones tanto en la eliminación de interferentes (utilización de carbón activado), como en los reactivos utilizados (el uso de ácido acético y peróxido de hidrógeno en reactivos separados, lo

cual hace menos costoso el procedimiento) para la determinación de yoduro por UV-Visible. En ese caso podemos decir que la metodología utilizada por nosotros presenta cierta originalidad. Hay que resaltar que la detección y cuantificación de yoduro en orina se realizó de manera sencilla y económica, lo que le da más importancia a la metodología utilizada. Podemos agregar que otra de las ventajas de esta metodología es el hecho de utilizar muestras de orina en lugar de muestras de suero, haciendo que el procedimiento de toma de muestra sea más fácil y práctico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Mérida-Venezuela) por la colaboración prestada en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Prummel M, Strieder T, Wiersinga W. The environment and autoimmune thyroid diseases. *European Journal of Endocrinology*. 2004; 150 (5): 605-618.
2. Kasper D, Fauci A, Longo D, Braunwald E, Hauser S, Jamenson J. *Principios de Medicina Interna*. (16ma Ed.). México: McGraw-Hill; 2006.
3. Carpenter A, Plum S. *Compendio de Medicina Interna*. (2da Ed.). España: McGraw-Hill; 1991.
4. Remer T, Neubert A, Manz F. Increased risk of iodine deficiency with vegetarian nutrition. *Br. J. Nutr.* 1999; 81(1):45-9.
5. Ganong W. *Fisiología Médica*. (19ma Ed.). México: El Manual Moderno; 2004.
6. *Manual Merck*. 10ma Edición. Editorial Harcourt. Edición en CD-ROM; 1999.
7. Orrego A; *Fundamentos de Medicina-Endocrinología*. (4ta Ed.).



- Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas; 1.991.
8. Belandria O. Diseño y Preparación de un Sensor Electroquímico para la Determinación de Yoduro. [Tesis de Licenciatura]. Venezuela: Universidad de Los Andes; 2.007.
9. Rendl J, Bier D, Groh T, Reiners C. Rapid Urinary Iodide Test. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; 83(3):1007-12.
10. Martinez J, Sanchez M. Orina [online]. 2.000. [citado 19 Febrero 2.005.] Disponible en: [http://www.medicodirecto.com/~temasalud/s01_203 .htm](http://www.medicodirecto.com/~temasalud/s01_203.htm).
11. Moscan M, Moscan H, Kizilkaya M, Tokel S. Urinary iodine levels in endemic and non-endemic regions of Turkey. *Trace elements in Medicine*. 1.992; 9(2): 59-61.
12. Belandria O, Hernández N, Matheus P. Optimización de un Método Voltamétrico para la Detección de Yoduro en Electrodo de Carbón Vítreo. Modificado con Quitosano. IX Congreso Venezolano de Química y I Congreso Internacional. Venezuela; 2.009.
13. Rocklin R, Jonson E. Determination of Cyanide, Sulfide, Iodide and Bromide by Ion Chromatography with Electrochemical Detection. *Anal. Chem*. 1.983; 55:4-7.
14. Xiaogang W, Guanghan L, Xiaoyang Z, Xin Y. Anodic voltammetric behavior of iodide at a chitosan-modified glassy carbon electrode. *Analytical Letters*. 2.001; 34 (7): 1205-14.
15. Bello A, Flores M. Determinación de Yoduro en Orina Utilizando Espectrofotometría UV-visible. [Tesis de Licenciatura]. Venezuela: Universidad de Los Andes; 2.008.
16. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (A.P.V.M.A). Guide lines for The Validation of Analytical Methods for Active Constituent, Agricultural and Veterinary Chemical Products; 2.004.
17. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I). Validación de Métodos Analíticos. Monografías. Comisión de Normas de Buena Fabricación y



Control de Calidad; 2.001.

18. Kerrigan S, Brooks D. Indirect enzyme linked immunosorbent assay for the quantitative estimation of Lysergic acid diethylamide in urine. 1.998; En: Velásquez Y, Rodríguez N, Mujica X, Santiago G, Vivas S, Labrador C, González E, Lorente A. Evaluación de un Método Enzimático para la Determinación de Triglicéridos. Revista de la Facultad de Farmacia, 2006; 48(2):3-7.
19. González S. Bioquímica Clínica; Bases y Principios. 1993; En: Velásquez Y, Rodríguez N, Mujica X, Santiago G, Vivas S, Labrador C, González E, Lorente A. Evaluación de un Método Enzimático para la Determinación de Triglicéridos. Revista de la Facultad de Farmacia, 2006; 48(2):3-7.