

الفصل الرابع

اختبار طرق التحليل

مقدمة:

تعتمد الطرق التحليلية على عدة عناصر مثل :

* الطرق القياسية (Standard methods) وهي طرق تعتمد على بعض المنظمات مثل

(AOCA) و (ASTM)

* الطرق الرسمية (official methods) وهي طرق تعتمد على بعض الجهات الحكومية مثل

(NIOSH) و (USAPA)

* الطرق المنشورة (Literature methods) وهي الطرق المنشورة في المجالات العلمية

المتخصصة

• الطرق الخاصة (Laboratory in- house development methods)

واختيار طريقة للتطبيق يعتمد على عدة عوامل أهمها هي خصائص الأداء السابق الإشارة لها .
ويبين الشكل رقم (٤ - ١) طريقة اختيار الطريقة للتطبيق.

ومن المعروف أن كل الطرق الرسمية والقياسية لا تضمن معقولية النتائج وليس هناك طريقة مضمونة
ولذا يجب ان تطور هذه الطرق قبل الاستخدام . وتقييم الطرق القائمة للتقدير وذلك بتحديد
خصائص أدائها وإذا لم تف الطرق الموجودة بالمتطلبات اللازمة فيجب في هذه الحالة ابتكار طريقة
جديدة أو تدرس إمكانية تغيير بعض العوامل والظروف التي تسمح بإعطاء نتائج معقولة ومقبولة

طرق التشغيل القياسية:

أهمية طرق التشغيل القياسية (Standard Operation Procedure)

تصف طريقة التشغيل القياسية (SOP) هي الطريقة التي يتم بها القياس في المعمل وهذا يشمل
طريقة أخذ العينات . تحضير العينات . طرق القياس . وأي طرق أخرى تجرى بطريقة منتظمة . ولفظ
قياسي يعني أنها تصف الطريقة التي تجري بها عملية التحليل كل مرة والتي قد تكون أو لا تكون
الطريقة المعتمدة أو المنشورة .

وعند وجود طرق قياسية فإن المختبرات عليها أن تبدأ باختيار صلاحية هذه الطرق حيث أنه يمكن الاعتماد عليها في مقارنة نتائج من مختبرات مختلفة . وفي غياب طرق التشغيل القياسية فإن المحلل يمكنه أن يعتمد على أفضل الإمكانيات في غير تغيير بعض الخطوات والعمليات بحيث يزيد من فاعلية الطرق. وعندما تستخدم الطرق بطريقة متكررة فإن ذلك يشجع على كتابة هذه الطرق بطريقة رسمية أما الطرق التي تستخدم من وقت إلى آخر بغير انتظام فإنها تعتمد على حق المعرفة للمحلل (Know _how).

وهذه التقنية الأخيرة قلما تجرى لها دراسة بهدف تحسينها وكمالها (Optimization) وقد تستخدم في كل مرة بطريقة مختلفة. ويجب عدم تشجيع ممارسة التحاليل دون طرق مكتوبة ويجب توثيق كل ما يؤدي بالمختبر.

ووصف الطريقة قبل الاستخدام يعتبر جزءا من التخطيط ويجب أن يجرى بدقة وقراءة هذه الطرق بواسطة المحللين هو الحد الأدنى المطلوب للتأكد من أنهم يعرفون الطريقة وبالتالي استمرارية العمل بها ومعرفة الفائدة ونقد الطريقة أيضا .

وتستخدم صيغة أو شكل موحد لكتابة العمل وذلك لتسهيل الاستخدام وبينما يؤدي استخدام طرق التشغيل القياسية الى استمرارية الخبرة في القياس فلا يوجد تقنية يمكن استخدامها مباشرة وبطريق عمياء ، وفي كل حالة يجب التأكد من ملائمة الطريقة للغرض المطلوب وإذا كانت الطريقة تستخدم بطريقة غير منتظمة فيمكن للمحلل أن يقوم ببعض التجارب الأولية أو الاستطلاعية للتأكد من صلاحية الطريقة للغرض المحدد .

تحضير طرق التشغيل القياسية

إن الفرق بين التعليمات وطرق التشغيل القياسية غير ملموس . فالفرق أساسا هو التحديد. فالتعليمات تعطي إرشادات وتشير إلى طرق التشغيل القياسية في حين أن الأخيرة تعطي التوجيهات وفرق آخر هو ان التعليمات نادرا ما تعطي نتائج بالرغم من أنها تؤثر في النتائج ونطاق التعليمات واسع ويطبق على مواقف أو عمليات متماثلة أما طرق القياس القياسية فإنها تعطي نتائج محددة إما في صورة نتائج القياس أو في المنتج النهائي وحيث ان كل التفاصيل لا يمكن وصفها فإن الغرض من طرق التشغيل القياسية هو إزالة الفروق التي تؤثر على النتيجة النهائية . ويجب ان تحدد طرق التشغيل الجيدة التجاوزات المسموح بها لضبط النتائج .

ويسهل كتابة طرق التشغيل القياسية إذا ما استخدم شكل عام ويبين الجدول رقم (٤ - ١) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للتحاليل الكيميائية

جدول رقم (٤ - ١)

إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للتحاليل الكيميائية

م	خطوات التشغيل القياسية
١	العنوان
٢	نطاق العمل (العنصر المقاس - مدى القياس - وسط القياس - حدود الدقة وصحة البيان المتوقعة
٣	مصدر أو مرجع الطريقة
٤	التسميات
٥	ملخص الطريقة
٦	الاستخدامات
٧	التداخلات
٨	الأجهزة المستخدمة
٩	الكواشف والمواد الكيماوية المستخدمة
١٠	الاحتياطات والأخطار
١١	طريقة أخذ وتجهيز العينات
١٢	إعداد الأجهزة
١٣	معايرة الأجهزة

١٤	طريقة العمل
١٥	الإحصاء المستخدم
١٦	طريقة الحساب
١٧	تحديد حدود عدم الثقة

ويبين الجدول رقم (٤ - ٢) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة.

جدول رقم (٤ - ٢)

إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة

م	خطوات إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة
١	العنوان
٢	ملخص
٣	وصف للعنصر المراد معايرته
٤	فترات المعايرة
٥	المواد القياسية المستخدمة (المصدر . طريقة التحضير)
٦	طريقة العمل
٧	الحسابات (اختزال النتائج . تثبيت النقاط على منحنى المعايرة . حدود عدم الثقة
٨	التقرير (شكل التقرير . بطاقة التعريف والموافقة)
٩	المراجعة

ويعرض الجدول رقم (٤ - ٣) إطار إعداد سجل الأجهزة (Logbook)

جدول رقم (٤ - ٣)

إطار إعداد سجل الأجهزة (Logbook)

م	خطوات إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة
١	اسم الجهاز
٢	بيانات الجهاز (المنتج - الرقم المسلسل - المورد - تاريخ الشراء - تاريخ دخول الخدمة - مكانه في المعمل - حالته عند الوصول - المسئول عن الجهاز - إشارة للأجزاء التابعة له
٣	الصيانة الداخلية (جدول الصيانة - طريقة العمل - سجل الأداء)
٤	الصيانة الخارجية (جدول الصيانة - عقود الصيانة - سجل الأداء)
٥	الضبط (بالإشارة إلى طرق التشغيل القياسية)
٦	إرشادات الاستخدام (إما مكتوبة أو يشار إلى دليل المصنع)

خصائص الأداء لطرق التحاليل الكيميائية

يطلق على خصائص التشغيل الهامة بطريق التحاليل " خصائص الأداء " وهي تعطي الأساس في اختيار طريقة القياس المناسبة لغرض محدد .

وخصائص الأداء ليست ثابتة للطريقة الواحدة حيث تعتمد على قيم تتأثر بالمستخدم وعليه فإنها تعتمد على الطريقة التي استخدمت فيها التجربة، أن عديد من خصائص الأداء يمكن تقييمه كمياً بالطرق الإحصائية

Limit of Detection

● حد التمييز

Accuracy

● حد الصحة

Precision	• الدقة
Sensitivity	• الحساسية
Range	• المدى
Selectivity	• الانتقائية
Ruggedness	• الجمود
Speed	• السرعة
Cost	• التكلفة

حد التمييز

عرف حد التمييز في الماضي بعدة طرق ولكن المنظمات العالمية تميل حاليا باستخدام التعريف الآتي :

معيار التمييز (Criterion of Detection) وهو أقل قيمة يمكن الحصول عليها بدرجة عالية من المصدقية والثقة (عادة في حدود ٩٥ %) وتكون أكبر من الصفر . أما حد التمييز (Limit of Detection) فهو أقل تركيز مع حد الثقة المطلوب (عادة مثل الحال في معيار التمييز) والذي يعطي نتيجة فوق معيار التمييز ويمكن تمييزه وتسمى القيم بين حد التمييز ومعيار التمييز والأثر (Trace) .

وفي بعض الأحوال يستخدم تعبير حد التقدير (Limit of quantization) حيث يكون من الضروري ليس فقط تمييز وجود المادة المراد تحليلها ولكن أيضا معرفة الكمية الممكن تقديرها بدرجة محدودة إحصائيا وعادة ما تكون هذه القيمة عشرة أمثال الحيدود القياسي للتجربة والغفل ($10S_w$)

S_w = within batch standard deviation from the average of the ranges

ويمكن الحصول على قيمة (S_w) من تكرار قياسات التجربة الغفل واستخراج الحيدود القياسي لهذه القيم أو باستخدام كميات من المادة المراد تقديرها بتركيزات متناهية في الصغر وذلك إذا كانت قيم التجربة الغفل لا يمكن قياسها .

ويعتبر حد التمييز هاما في التحاليل لتركيزات الأثر (Trace) حيث من الضروري تقرير ما إذا كان وجود المادة المتداخلة أقل أو اكبر من القيمة المشروعة ويجب أن يكون حد التمييز اقل من ١ / ١٠ من التركيز المراد قياسه .

حد التمييز (LOD) Limit of detection : إن معظم القياسات البينية تتضمن حساب قيم التجارب وطرحها من القيم المقاسة للتجربة وبحساب قيمة الحيود القياس لهذا الفرق:

$$S_{result} = S_{w,blank} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

أما قيمة Criterion of detection (CD) فهي الحد العلوي من الثقة والتي قيمتها الحقيقية صفرا:

$$CD = t_{1-\alpha} (df) \times S_{w,blank} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

ويمكن اختيار مستوى الثقة لتناسب قياس معين وغالبا فإن مستوى ٩٥ % من الثقة يكون كافيا.

وحد التمييز (LOD) يساوي عادة ضعف قيمة (CD)

$$LOD = 2CD$$

$$= 2 \times t_{1-\alpha} (df) \times S_{w,blank} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

حيث n هو عدد القيم التكرارية المستخدمة في تصحيح القيمة المستخدمة في بعض التجارب الروتينية.

مثال ١ :

عند تقدير الكاديوم في تجربة بواسطة طيف الامتصاص الذري تم الحصول على النتائج التالية :

0.088, 0.064, 0.073, 0.082, 0.079, 0.055

$$S_w = R'/d_2$$

D2 في حالة ثنائية التكرارية أي n = ٢ من الجدول = ١٠١٢٨

$$S_{w,blank} = 0.0122 \text{ mg / L}$$

وحيث ان عدد القياسات = ٦ فإن درجة الحرية (df) = ٥

$$LOD = 2 \times t_{0.95} (s) \times 0.0122 \times \sqrt{1 + \frac{1}{2}}$$

$$= 0.06 \text{ mg / L}$$

الدقة

صحة نتائج طريقة ما (Accuracy) هي مدى تقارب النتيجة مع القيمة الحقيقية. وصحة النتيجة ينسب لنتيجة واحدة من نتائج التحليل وبذلك فهي تمثل الخطأ المنتظم والخطأ العشوائي معا فالخطأ المنتظم أو الحيود هو الفرق بين متوسط عدد كبير من النتائج والقيم الحقيقية.

مقدار الدقة:

يعرف مقدار الدقة بمدى نسبة قيم تركيزات العنصر المراد قياسه إلى القيمة الحقيقية للعنصر. وعادة ما يعبر عن مقدار الدقة بقيمة الاسترداد الأدنى minimum recovery والأقصى maximum recovery أما قيمة الأحيوية (trueness) يعبر عنها بنسبة متوسط عدد كبير من القياسات إلى القيمة الحقيقية للعنصر

$$\text{Trueness} = \frac{100 \times \text{متوسط القياسات}}{\text{القيمة الحقيقية}}$$

ولحساب مقدار الدقة يتطلب قياس العديد من القراءات للعينات المختارة من الأنواع الآتية :

١ . من قيمة الاسترداد المحسوبة لتركيز معلوم مضاف إلى عينة طبيعية .

٢ . من مواد مرجعية معلومة التركيز .

٣ . مقارنة التركيز المتحصل مع نظيره المتحصل من طريقة محدودة الدقة .

٤ . مقارنة التركيز المتحصل مع نظيره المتحصل من طريقة أخرى موثقة .

٥ . من خلال دراسات بين المعامل المختلفة.

ويتم حساب قيمة الاسترداد لكل قراءة على حدة وذلك باستخدام المعادلة الآتية :

$$\text{قيمة الاسترداد الأدنى} = \frac{\text{أقل قراءة} / \text{القياسات} \times 100}{\text{القيمة الحقيقية}}$$

قيمة الاسترداد الأقصى = أعلى قراءة في القياسات $X \times 100$

القيمة الحقيقية

رقم التشغيل	X_1	X_2	X	S
١	٢٧٤	٢٧٠	٢٧٢	٢٠٨٢٨
٢	٢٠٠	٢٥١	٢٥٥,٥	٣٦,٠٦
٣	٢٤٠	٢٣٠	٢٣٥	٧,٠٧١
٤	٢٥١	٢٦٤	٢٥٧,٥	٩,١٩٢
٥	٢٥٦	٢٧٢	٢٦٤	١١,٣
٦	٢٤٠	٢٤٠	٢٤٠	٠

القيمة الحقيقية = ٢٥٠ $\bar{X} = 249$

مقدار الدقة من ٢٠٠ / ٢٥٠ إلى ٢٧٤ / ٢٥٠

أي يتراوح ما بين ٨٠-١١٠ %.

مقدار الأهمية = $249 / 250 \times 100 = 99,6$

مقياس الضبط

الضبط (precision) هو تعبير عن تقارب واتفاق بين نتائج منفصلة، ويعبر عنه بالحيود القياسي، وهو عادة يعتمد على تركيز المادة المراد قياسها. وهذا الاعتماد يجب أن يقدر ويوثق، وتكرارية النتائج (Repeatability) هي نوع من الدقة للقياس تحت ظروف متكررة، ومفهوم قابلية الإعادة (Reproducibility) هو أحد مفاهيم الدقة.

ولعل من المفيد للقائم بالتحليل هو الحيود القياسي بين دفعات، وهو الحيود القياسي الناتج من قياسات اجريت تحت ظروف اختلافات قصوى داخل المختبر الواحد أي باستخدام نفس الطريقة – نفس المختبر – محللون مختلفون – أجهزة مختلفة- فترات زمنية مختلفة. ويعبر الحيود القياسي بين الدفعات وتكرارية النتائج عن الحيود القياسي.

وتحسب عدد درجات الحرية df كما يلي :

$$\text{درجة الحرية} = \text{عدد التشغيلات} - 1$$

ويمكن التعبير عن الحيود القياسي بالنسبة للمتوسطات $\bar{X}$

$$C_b = (S_x^2 - \frac{S_w^2}{n})$$

ويسمى عندئذ بالحيود القياسي النسبي أو معامل التفاوت والذي يطلق عليه اختصارا CV (Coefficient of Variation).

$$CV_w = (S_w / \bar{X}) \times 100$$

وفي عمليات القياس المكونة من عدد من الخطوات فإن كل خطوة تساهم في انتشار النتيجة. ومجموع الانتشار أي مجموع التفاوتات (Variance) (S_T^2) هي مجموع المساهمات من كل مصدر .

$$S_T^2 = S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_n^2$$

وفي مواقف عديدة في القياسات المعملية فإن مجموع التفاوتات يمكن اعتبارها من مصدرين هما داخل الدفعات (Within batch) وبين الدفعات (Between batches).

ولقد سبق الإشارة إلى الحيود القياسي داخل الدفعات (S_w) أما الحيود القياسي بين الدفعات (S_b) فيمكن تمثيله بالعلاقة:

$$S_b^2 = S_x^2 - S_w^2 / n$$

حيث (n) هي عدد مرات التكرار في كل دفعة و (m) هو عدد الدفعات وعدد درجات الحرية للحيود القياسي بين الدفعات (S_b) هو (m - 1).

$$CV_b = (S_b / \bar{X}) \times 100$$

S_x : هو الحيود القياسي للقراءات، مجموع التفاوتات (S_T^2) يساوي

$$S_T^2 = S_w^2 + S_b^2$$

عدد درجات الحرية S_T = عدد القياسات (reading) - ١

$$n \times (m - 1) =$$

الخطية

الخطية (Linearity) هي القابلية لإخراج إشارة تتناسب مع تركيز المادة المراد قياسها وتقدر الخطية بقياس عينات أو محاليل قياسية عيارية في المدى المراد قياس المواد فيه. ومن المفيد ان تكون العلاقة خطية بين التركيز والإشارة في مدى معقول ولكنها ليست شرطا مطلقا. وعندما يصعب الحصول على خطية لطريقة معينة يمكن استخدام طرق جبرية لذلك.

الحساسية

الحساسية (Sensitivity) هي فرق تركيز المادة المراد تحليلها منسوباً إلى أقل فرق في استجابة الطريقة يمكن تمييزه، وبحسب عادة من ميل منحنى المعايرة وفي بعض القياسات فإن الكتلة أو التركيز التي تعطي استجابة معينة تستخدم للتعبير عن الحساسية. وعلى سبيل المثال فعند استخدام طرق الامتصاص الذري (Atomic absorption spectrometry) لتقدير العناصر يستخدم التعبير الكتلة المميز لتوصيف خصائص أداء الطريقة. والكتلة المميزة في هذه الحالة هي كمية العنصر الذي يعطي استجابة قدرها ٠,٠٠٤٤ وحدة امتصاص.

المدى

المدى (Range) في التحاليل الكمية فإن المدى العملي (Working range) لطريقة يمكن تحديده باختبار عينات بتركيزات مختلفة ومعرفة المدى الذي يمكن من الحصول على نتائج مقبولة صحيحة ودقيقة. ويمكن أن يكون المدى العملي أوسع من المدى الخطي (Linear range).

الانتقائية

انتقائية طريقة (Selectivity) تشير إلى المدى الذي يمكن أن تقدر فيه مادة ما موجودة في وسط أو مخاليط معقدة دون تداخلات من المواد الغريبة ويجب دراسة تطبيقات الطريقة باستخدام عينات مختلفة تتراوح بين المواد القياسية النقية ومخاليطها في أوساط معقدة وفي كل حالة تحسب نسبة

الاسترجاع (Recovery) لمعرفة درجة التداخلات المتوقعة من هذه المواد الغريبة. وعندما تستخدم مختبرات مختلفة نفس طريقة التحليل فإنها تدخل أحيانا تعديلات على طريقة العمل بهدف استبعاد التداخلات.

الجمود

ويطلق على الجمود (Ruggedness) أحيانا (Robustness) وهو يدل على مدى قابلية تطبيق طريقة معينة بإدخال تغييرات طفيفة عليها مثل تغيير الأس الإيدروجيني أو زيادة مدة أو درجة التسخين أو الوقت دون تأثير على دقة النتائج.

السرعة

عندما يكون المطلوب إجراء تحاليل لعدد كبير من العينات فإنه يجب أن تتوفر في الطريقة المستخدمة عنصر السرعة (Speed) حتى يمكن الحصول على النتائج في وقت معقول وبجهد وتكلفة قليلة.

التكلفة

تهتم معظم مختبرات التحاليل وعمالئها بتكلفة التحاليل والمعروف ان الموارد البشرية واستهلاك الأجهزة والكيماويات وتكلفة الصيانة كلها عوامل تؤثر في التكلفة (Cost) لذا يجب أيضا اختيار الطريقة قليلة التكلفة.