

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/328382710>

Sample preparation methods in Chemical Analysis

Book · October 2018

CITATIONS

0

READS

108

3 authors:



Mahdi Jalali

Faculty of Medical Sciences Neyshabur

26 PUBLICATIONS 54 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Razzagh Rahimpour

Hamadan University of Medical Sciences

21 PUBLICATIONS 18 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Abdulrahman Bahrani

Hamadan University of Medical Sciences

98 PUBLICATIONS 482 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Study of noise pollution and presentation of control plan in hospitals [View project](#)



Thesis [View project](#)

به نام خدا

روش های آماده سازی نمونه هادر

تجزیه ترکیبات شیمیایی

روش های آماده سازی نمونه ها در تجزیه ترکیبات شیمیایی

سرشناسه: بهرامی، عبدالرحمان - ۱۳۴۳

عنوان و نام پدیدآور: روش های آماده سازی نمونه ها

در تجزیه ترکیبات شیمیایی. مولفان: عبدالرحمن بهرامی،

رزاق رحیم پور، مهدی جلالی

مشخصات نشر: تهران: گروه بین الملل طرّفه، انتشارات حک، ۱۳۹۷.

مشخصات ظاهری: ۴۷۲ص: مصور، جدول، نمودار.

شابک: ۹۷۸-۶۲۲-۶۳۲۵-۰۴-۲

وضعیت فهرست نویسی: فیبا

شناسه افزوده: رحیم پور، رزاق - ۱۳۶۸

شناسه افزوده: جلالی، مهدی - ۱۳۶۳

یادداشت:

رده بندی کنگره:

رده بندی دیویی:

شماره کتابشناسی ملی:

عنوان:

مولفان:

دکتر عبدالرحمن بهرامی

استاد گروه مهندسی بهداشت حرفه ای دانشگاه علوم پزشکی همدان

مهندس رزاق رحیم پور

دانشجوی دکتری تخصصی مهندسی بهداشت حرفه ای دانشگاه علوم پزشکی همدان

مهندس مهدی جلالی

مرئی گروه مهندسی بهداشت حرفه ای دانشگاه علوم پزشکی تیشابور

نوبت چاپ: اول / تابستان ۱۳۹۷

تیراژ: ۱۰۰۰ جلد

طراحی، صفحه آرایی و چاپ: گروه طرح طرّفه

ناشر: انتشارات حک (عضو هلدینگ طرّفه)



انتشارات حک

این کتاب طی نامه شماره ۱۶/۳۵/۶/۳۲ پ معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان در یکصد و چهلمین شورای نشر دانشگاه مطرح و از نظر علمی مورد تأیید و پذیرش قرار گرفت.

۱۷ جنبه های تحلیلی آماده سازی نمونه ها

۱۴ ۱-۱- فرآیند اندازه گیری

- ۱-۱-۱- تجزیه ی کمی و کیفی
- ۲-۱-۱- روش های کمی سازی
- ۳-۱-۱- منحنی های کالیبراسیون

۲-۱- خطاهای تجزیه ی کمی: صحت و دقت

- ۱-۲-۱- صحت
- ۲-۲-۱- دقت
- ۳-۲-۱- جنبه های آماری فرآیند آماده سازی نمونه

۳-۱- عملکرد و اعتبار روش

- ۱-۳-۱- حساسیت
- ۲-۳-۱- حد تشخیص
- ۳-۳-۱- محدوده ی کمی سازی
- ۴-۳-۱- دیگر پارامترهای تأثیرگذار
- ۵-۳-۱- اعتبار سنجی روش

۴-۱- حفظ و نگهداری نمونه ها

- ۱-۴-۱- تیخیر سازی
- ۲-۴-۱- انتخاب مناسب ظروف
- ۳-۴-۱- جذب عمقی گازها از اتمسفر
- ۴-۴-۱- تغییرات شیمیایی
- ۵-۴-۱- حفظ و نگهداری جامدات ناپایدار

۵-۱- فرایندهای پس از استخراج

۱-۵-۱- تغلیظ عصاره های نمونه

۲-۵-۱- پاکسازی نمونه

۶-۱- تضمین کیفیت و کنترل کیفیت در حین آماده سازی نمونه

۱-۶-۱- تعیین صحت و دقت

۲-۶-۱- کنترل آماری

۳-۶-۱- کنترل ماتریکس

۴-۶-۱- کنترل آلودگی

۷-۱- توسعه و ارزشیابی روش های نمونه برداری و تجزیه ترکیبات هوا برد

۱-۷-۱- مقدمه

۲-۷-۱- توسعه روش

۳-۷-۱- ارزشیابی روش

۴-۷-۱- مستندسازی روش توسعه یافته

روش های آماده سازی نمونه ها

۲- اصول و عملکرد روش سوکسله و سوکسله اتوماتیک

۱-۲- مقدمه

۱-۱-۲- مکانیزم استخراج

۲-۱-۲- رویه های پیش استخراج

۳-۱-۲- رویه های پس از استخراج

۲-۲- روش سوکسله و سوکسله اتوماتیک

۱-۲-۲- روش سوکسله

۲-۲-۲- روش سوکسله اتوماتیک

۳-۲-۲- مقایسه دو روش سوکسله و سوکسله اتوماتیک

۳- روش استخراج فراصوت

۱-۳- مقدمه

۲-۳- انتخاب، کاربردها و مقایسه با روش سوکسله

۴- روش استخراج به کمک مایکروویو (MAE)

۱-۴- مقدمه

۲-۴- ملاحظات تئوریک

۳-۴- تجهیزات

۱-۳-۴- سیستم‌های استخراج مایکروویومخن بسته

۲-۳-۴- سیستم‌های استخراج مایکروویومخن باز

۳-۳-۴- رویه‌های انجام کار و مزایا/معایب

۴-۳-۴- پارامترهای فرآیند

۴-۴- کاربردهای روش استخراج به کمک مایکروویو

۵-۴- مقایسه بین روش‌های مختلف استخراج

۵- روش استخراج با حلال تسریع شده

۱-۵- مقدمه

۲-۵- ملاحظات تئوریک

۳-۵- تجهیزات

۴-۵- رویه‌های عملیاتی

۱-۴-۵- دما و فشار

۲-۴-۵- پارامترهای فرآیند

۳-۴-۵- حلال‌ها

۵-۵- مزایا، معایب و کاربردهای روش استخراج با حلال تسریع شده

۶- روش استخراج با سیال فوق بحرانی

۱-۶- مقدمه

۲-۶- ملاحظات تئوریک

۳-۶- تجهیزات

۴-۶- رویه‌های عملیاتی

۵-۶- مزایا/معایب و کاربردهای روش استخراج با سیالات فوق بحرانی

۷- مبانی روش‌های استخراج با استفاده از فاز مایع

۱-۷- اصول استخراج

۱-۱-۷- فراریت

۲-۱-۷- آبگریزی

۳-۱-۷- تعادل اسید-باز

۴-۱-۷- توزیع ترکیبات آلی یون‌ژنیک آبگریز

۸- روش استخراج مایع-مایع (LLE)

۱-۸- مقدمه

۲-۸- بازیافت

۳-۸- روش کار

۴-۸- روبه انجام کار

۹- روش استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی (DLLME)

۱-۹- مقدمه

۲-۹- اصول استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی (DLLME)

۳-۹- پارامترهای مؤثر بر با کارایی روش استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی

۱-۳-۹- نوع و حجم حلال استخراج

۲-۳-۹- نوع و حجم حلال پخش کننده

۳-۳-۹- قدرت یونی (Ionic Strength)

۴-۳-۹- پتانسیل هیدروژن (PH)

۵-۳-۹- زمان استخراج

۴-۹- مشتق سازی در استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی

۵-۹- ترکیب استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی با دیگر روش های آماده سازی نمونه

۶-۹- اتوماسیون استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی

۷-۹- ساختارهای اشکال جدید در استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی

۸-۹- کاربردهای استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی

۱-۸-۹- کاربرد استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی برای آنالیز ترکیبات آلی

۲-۸-۹- کاربرد استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی در تجزیه ترکیبات غیر آلی

۹-۹- روندهای آینده

۱۰-۹- نتیجه گیری

۱۰- روش استخراج میکرونی فاز مایع با فیلتر توخالی

۱-۱۰- مقدمه

۲-۱۰- توسعه تاریخی

۳-۱۰- مبانی نظری و اصول پایه

۱-۳-۱۰- سیستم ریز استخراج فاز مایع در حالت دو فاز

۲-۳-۱۰- سیستم ریز استخراج فاز مایع در حالت سه فاز

۱۰-۳-۳- نقاط پایانی استخراج

۱۰-۴- توسعه روش ریز استخراج فاز مایع

۱۰-۴-۱- تنظیمات فنی

۱۰-۴-۲- حالت استخراج

۱۰-۴-۳- حجم نمونه

۱۰-۴-۴- حجم فاز پذیرنده

۱۰-۴-۵- PH نمونه

۱۰-۴-۶- PH فاز پذیرنده

۱۰-۴-۷- انتخاب فاز آلی

۱۰-۴-۸- مواد افزودنی

۱۰-۴-۹- همرفت

۱۰-۴-۱۰- زمان استخراج

۱۰-۵- کاربردهای میکرواستخراج فاز مایع

۱۰-۵-۱- ریز استخراج فاز مایع در آفت کش ها، هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای و پلی کلرینیتد

بی فیل در نمونه های محیطی

۱۰-۵-۲- ریز استخراج فاز مایع داروها در نمونه های زیست محیطی

۱۰-۵-۳- اتوماسیون ریز استخراج فاز مایع

۱۰-۵-۴- تکنیک ریز استخراج فاز مایع و ترکیب آن با طیفبین جرمی- پلاسماجفت شده القایی

۱۰-۵-۵- بررسی مواد شیمیایی آگروژن در مایعات بدن انسان باریز استخراج فاز مایع

۱۰-۵-۶- مشتق سازی همزمان باریز استخراج فاز مایع

۱۰-۵-۷- بررسی مواد دارویی در مو، خون و شیر مادر با استفاده از روش ریز استخراج فاز مایع

۱۰-۵-۸- ریز استخراج فاز مایع داروهای قطبی، بازی و اسیدی

۱۰-۵-۹- کاربردهای ریز استخراج فاز مایع در مواد غذایی و نوشیدنی ها

۱۰-۶- عملکرد

۱۰-۷- استخراج الکتروممبران (EME)

۱۰-۸- کاربرد میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی جهت مطالعات مواجهه شغلی

۱۰-۸-۱- روش استخراج

۱۰-۸-۲- بهینه سازی شرایط استخراج

۱۰-۸-۳- اعتبار سنجی روش مورد مطالعه

۱۰-۹- چشم انداز آینده

۱۱- روش استخراج از فضای فوقانی

۱۱-۱- مقدمه

- ۱-۱-۱۱- آماده سازی نمونه جهت استخراج به روش استخراج استاتیک از فضای فوقانی
- ۲-۱-۱۱- بهینه سازی کارایی و کمی سازی استخراج استاتیک فضای فوقانی
- ۳-۱-۱۱- روش های کمی سازی در روش استخراج استاتیک از فضای فوقانی

۱۱-۳- استخراج دینامیک فضای فوقانی (پاکسازی و به دام اندازی)

- ۱-۳-۱۱- تجهیزات
- ۲-۳-۱۱- شرایط بهینه در روش پاکسازی و به دام اندازی
- ۳-۳-۱۱- رابط بین سیستم پاکسازی و به دام انداز به بادستگاه گاز کروماتوگراف
- ۴-۳-۱۱- کاربرد روش های استخراج استاتیک و دینامیک از فضای فوقانی در مطالعات زیست محیطی

۱۲- روش استخراج فاز جامد

۱-۱۲- مقدمه

۱-۱-۱۲- جذب

۱۲-۲- جذب های کاربردی در روش استخراج فاز جامد

- ۱-۲-۱۲- جذب های قطبی
- ۲-۲-۱۲- رزین های پلیمری غیر قطبی
- ۳-۲-۱۲- جذب های سیلیس باند شده
- ۴-۲-۱۲- رزین های پلیمری با گروه عاملی (عاملی شده)
- ۵-۲-۱۲- جذب های تبادل یونی
- ۶-۲-۱۲- جذب با دسترسی کنترل شده
- ۷-۲-۱۲- تمایل ایمونولوژیکی یا جذب ایمونولوژیکی
- ۸-۲-۱۲- پلیمر های قالب مولکولی
- ۹-۲-۱۲- جذب های ترکیبی و روش های چندانگنه

۱۲-۳- انتخاب جذب

۱۲-۴- درصد بازیافت

- ۱-۴-۱۲- وابستگی میزان جذب به PH نمونه
- ۲-۴-۱۲- وابستگی میزان جذب به حجم نمونه
- ۳-۴-۱۲- وابستگی میزان جذب به جرم جذب
- ۴-۴-۱۲- وابستگی میزان جذب به غلظت آنالیت
- ۵-۴-۱۲- وابستگی میزان وا جذب آنالیت به قدرت شویندگی حلال شوینده
- ۶-۴-۱۲- وابستگی میزان وا جذب آنالیت به حجم حلال شوینده

۱۲-۵- روش کار

۱۲-۶- رویه انجام کار

۱۲-۱-۶- آنالیت یونیزه شده

۱۲-۲-۶- روش استخراج فاز جامد چند مرحله ای

۱۲-۷- پیشرفت های اخیر در روش استخراج فاز جامد

۱۳- روش ریز استخراج فاز جامد (SPME)

۱۳-۱- مقدمه

۱۳-۲- جاذب ها

۱۳-۱-۲- فاز جاذب غیر قطبی تک جزئی

۱۳-۲-۲- فاز جاذب قطبی تک جزئی

۱۳-۳-۲- فازهای جاذب ذره ای و متخلخل تلفیق شده

۱۳-۳- انتخاب جاذب

۱۳-۴- بهینه سازی میزان باز یافت

۱۳-۵- روش کار

۱۳-۶- رویه انجام کار

۱۳-۷- کاربرد روش ریز استخراج فاز جامد در تجزیه ترکیبات آلی فرار

۱۳-۱-۷- توسعه روش ریز استخراج فاز جامد برای ترکیبات آلی فرار

۱۳-۲-۷- انتخاب پوشش فیبر در روش ریز استخراج فاز جامد

۱۳-۳-۷- بهینه سازی شرایط استخراج

۱۳-۴-۷- بهینه سازی تزریق ریز استخراج فاز جامد به گاز کروماتوگراف

۱۳-۸- کاربرد روش ریز استخراج فاز جامد جهت مطالعات مواجهه شغلی

۱۴- روش ریز استخراج با جاذب انباشته شده (MEPS)

۱۴-۱- مقدمه

۱۴-۲- اصول روش

۱۴-۳- جاذب های مورد استفاده در روش MEPS

۱۴-۴- روند به کارگیری سرنگ روش MEPS

۱۴-۵- کاربردهای روش MEPS

۱۴-۶- مزایای و محدودیت های روش MEPS

۱۴-۷- روند روش MEPS در آینده

۱۵- روش استخراج بدام اندازی در سوزن

۱۵-۱- مقدمه

۱۵-۲- تئوری روش تله سوزنی

۱۵-۲-۱- نمونه برداری فعال جامع

۱۵-۲-۲- نمونه برداری غیر فعال

۱۵-۲-۳- به دام اندازی ذرات

۱۵-۳- سیر تکاملی تکنولوژی تله سوزنی

۱۵-۳-۱- وسایل

۱۵-۳-۲- تثبیت جاذب

۱۵-۳-۳- پیکربندی وسایل

۱۵-۳-۴- جاذب ها

۱۵-۳-۵- واجذب

۱۵-۴- کاربردها

۱۵-۴-۱- تجزیه هوای بازدم

۱۵-۴-۲- تشخیص کلی یا تشخیص مستقل

۱۵-۴-۳- نمونه برداری غیر فعال (جامع)

۱۵-۵- اتوماسیون روش

۱۵-۶- کاربرد نمونه بردار تله سوزنی جهت مطالعات مواجهه شغلی

۱۵-۶-۱- کاربرد نمونه بردار تله سوزنی جهت نمونه برداری ترکیبات شیمیایی در هوا

۱۵-۶-۲- کاربرد نمونه بردار تله سوزنی جهت استخراج ترکیبات شیمیایی از ماتریکس های بیولوژیک

۱۵-۷- راه های آینده

۱۵-۸- مقایسه روش ها

۱۶- روش استخراج غشائی

۱۶-۱- مقدمه

- ۱۶-۲- انواع غشاء و ماژول های غشائی
- ۱۶-۳- استخراج غشائی همراه با گاز کروماتوگرافی
- ۱۶-۴- استخراج غشائی تزریق گاز
- ۱۶-۵- بهینه سازی استخراج غشائی
- ۱۶-۶- نتیجه گیری
- ۱۷- آماده سازی نمونه ها برای تجزیه فلزات
 - ۱۷-۱- مقدمه
 - ۱۷-۲- روش های هضم کردن
 - ۱۷-۲-۱- روش های هضم کردن مرطوب
 - ۱۷-۲-۲- هضم اسیدی-خاکستر سازی مرطوب
 - ۱۷-۲-۳- هضم با کمک مایکروویو
 - ۱۷-۲-۴- مقایسه روش های هضم کردن
 - ۱۷-۳- روش های خاکستر سازی
 - ۱۷-۳-۱- خاکستر سازی تحت فشار
 - ۱۷-۳-۲- خاکستر سازی مرطوب نمونه های جامد
 - ۱۷-۳-۳- خاکستر سازی خشک
 - ۱۷-۴- استخراج، جداسازی و تغلیظ
 - ۱۷-۵- استخراج آلی فلزات
 - ۱۷-۶- استخراج فلزات با استفاده از سیالات فوق بحرانی
 - ۱۷-۷- آماده سازی نمونه با ولتراسونیک
 - ۱۷-۸- پیش شرایط سازی با استفاده از روش استخراج فاز جامد
 - ۱۷-۹- آماده سازی نمونه های آب
 - ۱۷-۱۰- روش های بارشی
 - ۱۷-۱۱- آماده سازی دوغاب نمونه جهت تجزیه بادستگاه طیف سنجی جذب اتمی
 - ۱۷-۱۲- روش های تولید هیدرید
 - ۱۷-۱۳- روش های رنگ سنجی

۱۷-۱۴- گونه زایی فلزات

۱۷-۱۴-۱- انواع گونه زائی

۱۷-۱۴-۲- گونه زائی برای خاک و رسوبات

۱۷-۱۴-۳- طرح های متوالی جهت بررسی فلزات در نمونه های خاک و رسوبات

۱۷-۱۴-۴- گونه زایی برای فلزات در مواد گیاهی

۱۷-۱۴-۵- گونه های اختصاصی عناصر

۱۷-۱۵- آلودگی در طی تجزیه فلزات

۱۷-۱۶- ایمنی در حمل و نقل مواد اسیدی

۱۸- آزمون ایمنوسوربت متصل به آنزیم (ELISA)

۱۸-۱- مقدمه

۱۸-۲- رویه عمومی روش آزمون ایمنوسوربت متصل به آنزیم

۱۸-۳- انواع مختلف آزمون ایمنوسوربت متصل به آنزیم

۱۸-۳-۱- ایمنوسوربت متصل به آنزیم مستقیم

۱۸-۳-۲- ایمنوسوربت متصل به آنزیم غیر مستقیم

۱۸-۳-۳- ایمنوسوربت متصل به آنزیم ساندویچی

۱۸-۳-۴- ایمنوسوربت متصل به آنزیم رقابتی

۱۸-۴- تفسیر داده های ایمنوسوربت متصل به آنزیم

۱۸-۵- آماده سازی نمونه

۱۸-۵-۱- محیط کشت فوقانی

۱۸-۵-۲- عصاره های سلول

۱۸-۵-۳- شرایط سازی مدیا

۱۸-۵-۴- عصاره بافت

۱۸-۶- راهنمای عیب یابی

فهرست

مطالب

پیشگفتار



طی چند دهه گذشته رشد فزاینده‌ای در تکنیک‌های آماده‌سازی و تجزیه ترکیبات شیمیایی در ماتریکس‌های مختلف ایجاد شده است. ظهور و توسعه شگفت‌انگیز تجهیزات و ابزارهای دقیق اندازه‌گیری مانند کروماتوگرافی، جذب اتمی، اسپکترومتری و همچنین سنسورها و تجهیزاتی در مقیاس میکرو از جمله مواردی است که در ایجاد این رشد فزاینده نقش داشته‌اند. علی‌رغم توسعه این ابزارهای تجزیه‌ای پیچیده، در اغلب موارد اندازه‌گیری کاملاً غیرتهاجمی و غیرمخرب هنوز ممکن نبوده و در اغلب موارد، قبل از انجام مراحل نهایی، یک یا چند مرحله پیش تصفیه نیز ضروری می‌باشد. در فرآیند اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی، آماده‌سازی نمونه‌ها اغلب مرحله‌ای دشوار بوده و به همین علت روند توسعه آن نیازمند کار زیاد می‌باشد و معمولاً این توسعه به نحوی آهسته انجام می‌گیرد. به همین علت، طی دهه‌های اخیر توجه زیادی به این امر وجود نداشت. با این حال، طی دو دهه اخیر شاهد پیشرفت سریع و رشد فزاینده این صنعت بوده‌ایم. یکی از مهم‌ترین دلایل این پیشرفت‌ها را می‌توان به نیازهای زیست‌محیطی، شغلی و همچنین صنایع دارویی مرتبط دانست که در آن جهت تجزیه تعداد بالای ترکیبات شیمیایی نیاز به تکنیک‌های متعدد آماده‌سازی نمونه می‌باشد. آماده‌سازی نمونه در کلیه جنبه‌های آنالیز ترکیبات شیمیایی، بیولوژیکی، مواد و سطوح دارای اهمیت می‌باشد. در بین پیشرفت‌های اخیر، توسعه روش‌های سریع‌تر، تکنیک‌های استخراج سبز و روش‌های استخراج میکرونی قابل توجه بوده‌اند. اختصاصی کردن آماده‌سازی نمونه‌ها مانند تهیه ساختارهای نانو و جاذب‌های محقق ساخته برای آنالیت‌های مختلف به منظور افزایش سطح و راندمان جذب ترکیبات نیز از جمله مواردی است که طی دو دهه اخیر تکامل یافته است. با توجه به همه این توضیحات، علم آماده‌سازی نمونه‌ها به صورت یک رشته جداگانه در علوم اندازه‌گیری و آنالیز مواد شیمیایی تبدیل شده است.

هدف از این کتاب ارائه خلاصه‌ای از روش‌های متنوع آماده‌سازی نمونه‌ها با تأکید بر مطالعات شغلی و زیست‌محیطی می‌باشد که سعی شده است در یک ساختار مناسب و در قالب ۱۸ فصل ارائه گردد. با توجه به اینکه ارائه کامل کلیه روش‌های موجود و پوشش کلیه جنبه‌ها در یک متن واحد تقریباً کاری غیرممکن می‌باشد، این کتاب تلاش می‌کند تا برخی از مهم‌ترین روش‌های سنتی و نوین آماده‌سازی نمونه‌ها را که به طور گسترده تری توسط محققین

توسعه و به کار برده شده است ارائه نماید. فصل اول کتاب، مسائل اساسی مربوط به آماده سازی نمونه، کنترل کیفی و نحوه توسعه و ارزشیابی روش های نمونه برداری و تجزیه ترکیبات را بیان می نماید. در ادامه رویکردهای متنوع تغلیظ و استخراج مورد بحث قرار گرفته است. اصول استخراج همراه با جزئیات خاص آماده سازی ترکیبات آلی فرار و غیر فرار در ماتریکس های جامد، مایع و گاز با استفاده از روش های سنتی مانند استخراج سوکسله، استخراج با استفاده از امواج فراصوت، استخراج به کمک امواج مایکروویو، استخراج با حلال تسریع شده، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج مایع-مایع، استخراج از فضای فوقانی، روش استخراج غشائی و استخراج فاز جامد نیز در قالب فصل های جداگانه ارائه گردیده است. همچنین کاربرد روش های نوین آماده سازی نمونه ها مانند استخراج میکرونی مایع-مایع پخشی، استخراج میکرونی فاز مایع با فیبر توخالی، روش ریزاستخراج فاز جامد، ریزاستخراج با جاذب انباشته و استخراج با روش بدام اندازی در سوزن نیز با تأکید بر استفاده از آن ها در بررسی مواجهات شغلی و زیست محیطی در این کتاب به طور مفصل مورد بحث قرار گرفته است. در انتها نیز اصول استخراج، همراه با جزئیات ویژه آماده سازی ترکیبات فلزی و همچنین یک روش تشخیصی مبتنی بر پلیت جهت تشخیص و کمی سازی پتیدها، پروتئین ها، آنتی بادی ها و همومون ها با نام آزمون ایمنوسوربنت متصل به آنزیم ارائه گردیده است.

این کتاب برای طیف وسیعی از دانش آموختگان، دانشجویان و شاغلین عزیز مرتبط با رشته های مهندسی بهداشت حرفه ای، مهندسی بهداشت محیط، ایمنی، بهداشت و محیط زیست، سم شناسی شغلی و محیطی، سم شناسی داروها، شیمی آلی، شیمی تجزیه، شیمی دارویی، شیمی مواد غذایی، بیوشیمی و بیوشیمی بالینی کاربرد دارد. با توجه به استفاده از بروزترین و معتبرترین منابع علمی جهان و تجربه ۳۰ ساله مؤلف اول در تدوین این محصول، این کتاب می تواند برای اهداف تدریس دانشگاهی، انجام پژوهش ها و پروژه های کاربردی و پایان نامه های مقاطع تحصیلی کارشناسی ارشد و دکترا نیز به نحو مطلوبی استفاده گردد.

اگر چه در تدوین این کتاب با بهره گیری از دانش و تجربه نزدیک ترین تخصص های مرتبط نهایت سعی برای رفع اشکالات به عمل آمده است، ولیکن ممکن است در آن کاستی هایی وجود داشته باشد. لذا از همکاران، دانش پژوهان و اساتید محترم تقاضا داریم که کاستی های موجود را از جنبه های علمی یا نگارشی به نشانی الکترونیکی razzaghrainipoor@yahoo.com ارسال نمایند تا انشاء الله در چاپ های بعدی این نواقص برطرف گردد. سپاس بیکران خداوند بزرگ را که به ما توفیق داد تا در راستای خدمتگزاری به جوانان، شاغلین و محققین این مرز و بوم گامی هر چند کوچک برداریم و امیدواریم این اثر ناچیز مورد رضایت خداوند منان و متخصصین محترم قرار گرفته و نقش کوچکی در خدمت به حوزه سلامت و بهداشت کشور عزیزمان ایران ایفا نماید.

با احترام

مؤلفین

دکتر عبدالرحمن بهرامی (استادگروه مهندسی بهداشت حرفه ای دانشگاه علوم پزشکی همدان)

مهندس رزاق رحیم پور (دانشجوی دکترای تخصصی مهندسی بهداشت حرفه ای دانشگاه علوم پزشکی همدان)

مهندس مهدی جلالی (مربی گروه مهندسی بهداشت حرفه ای دانشکده علوم پزشکی نیشابور)

بخش اول

جنبه های تحلیلی آماده سازی نمونه ها

۱-۱- فرآیند اندازه گیری

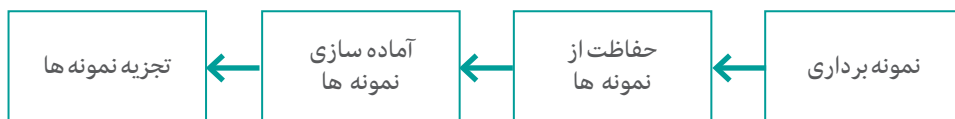
هدف اصلی یک مطالعه تجزیه ای دستیابی به اطلاعاتی در زمینه آنالیت ها می باشد. آنالیت مورد نظر می تواند جامد، مایع، گاز یا یک ماده بیولوژیک باشد. اطلاعات به دست آمده نیز می تواند متنوع باشد. این اطلاعات می تواند در رابطه با مشخصات فیزیکی یا شیمیایی آنالیت در نمونه های بیولوژیکی و یا تعیین ترکیبات شیمیایی در مواد زائد مایع می باشد. پیچیدگی روش های تجزیه ای در دسترس، باز هم امکان پیدا کردن همه اطلاعات جزئی نمونه های خیلی کوچک وجود ندارد. برای بیشتر قسمت ها، وضعیت ابزارهای مورد استفاده هنوز هم به اندازه ای که قادر به تهیه کلیه اطلاعات ضروری برای یک هدف خاص باشد، تکامل نیافته است. برخی از مراحل متداول در فرآیند اندازه گیری در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.

مرحله اول این فرآیند نمونه برداری می باشد. در این مرحله، نمونه از ماتریکس مورد نظر به منظور تجزیه جمع آوری می گردد. نمونه جمع آوری شده باید نماینده ای از کل ماتریکس باشد. در هنگام نمونه برداری باید تغییرپذیری هدف اصلی نیز در نظر گرفته شود. به عنوان مثال در هنگام جمع آوری نمونه هایی جهت تعیین نمک های کلسیم یک دریاچه باید به این نکته توجه کرد که غلظت های این ماده می تواند وابستگی بالایی به محل نمونه برداری، عمق محل نمونه برداری و زمانی از سال که نمونه برداری انجام می شود، داشته باشد.

مرحله بعدی فرآیند اندازه گیری آماده سازی نمونه ها می باشد. این مرحله به علت ایجاد تأخیر میان مرحله جمع آوری و تجزیه ی نمونه ها دارای اهمیت بالایی می باشد. حفاظت و نگهداری از نمونه ها باید به گونه ای باشد که نمونه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خود را حفظ نموده و تجزیه آن به طور واقعی نشان دهنده آنالیت تحت مطالعه باشد.

به محض جمع آوری یک نمونه، آماده سازی آن مرحله بعد از آن می باشد. اغلب نمونه ها پس از جمع آوری، آمادگی لازم را برای ورود مستقیم به داخل دستگاه تجزیه کننده ندارند. به عنوان مثال آنالیز اسید هیپوریک ادرار شاغلین مواجهه یافته با تولوئن که تجزیه مستقیم ادرار توسط دستگاه های تجزیه کننده امکان پذیر نیست، اسید هیپوریک ادرار باید به داخل یک محلول مناسب که قابلیت تزریق به دستگاه تجزیه کننده را داشته باشد، استخراج شود. خود محلول نیز قبل از تجزیه ممکن است نیازمند انجام چندین فرآیند جهت آماده سازی باشد. برخی از مراحل که به طور معمول ممکن است در بین مرحله آماده سازی نمونه ها مورد نیاز باشد در شکل ۱-۲ نشان داده شده است.

به هر حال، این مراحل به نوبه خود به نمونه، ماتریکس و سطح غلظت آنالیت هدف در نمونه وابسته می باشد. برای مثال تجزیه مقادیر ناچیز مواد، نیازمند مرحله آماده سازی سختگیرانه تری نسبت به تجزیه مقادیر بالای مواد می باشد.



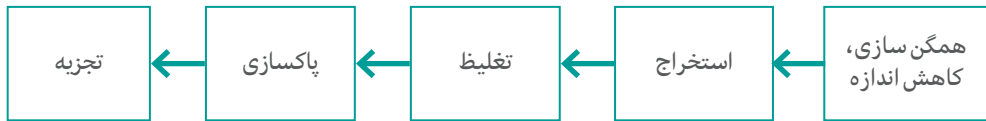
شکل ۱-۱- مراحل مختلف فرآیند اندازه گیری

پس از کامل شدن آماده سازی نمونه، تجزیه ی نمونه بایستی با استفاده از یک دستگاه مناسب صورت پذیرد. تنوع دستگاه های مورد استفاده برای تجزیه ی نمونه ها وابسته به اطلاعات در دسترس می باشد. به عنوان مثال کروماتوگرافی برای تجزیه ترکیبات آلی فرار نمونه برداری شده از هوای شهرها یا کارگاه ها و طیف بین اتمی برای تجزیه فلزاتی مانند سرب، آرسنیک و جیوه موجود در آب آشامیدنی مناسب می باشند. تجهیزات تجزیه ای متداول و آماده سازی نمونه مرتبط با آن ها در جدول ۱-۱ لیست شده اند. آماده سازی نمونه ها وابسته به روش های تجزیه ای انتخابی و قابلیت های این تجهیزات می باشد. برای مثال فقط مقدار اندکی از نمونه (در اندازه میکرولیتر) را می توان به داخل دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق کرد. در مثال تجزیه اسید هیپوریک در ادرار، محصول نهایی آماده سازی نمونه چند میکرولیتر از یک محلول می باشد که می توان آن را به داخل دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی تزریق نمود. در این مثال، نمونه برداری، حفاظت از نمونه و آماده سازی آن با هدف تهیه چند میکرولیتر از یک محلول انجام می شود که در نهایت به ما نشان دهد چه ماده ای در نمونه ادرار وجود دارد. واضح است که ایجاد یک خطا در سه مرحله ابتدایی نمی تواند حتی به وسیله دستگاه های تجزیه ای بسیار پیشرفته تصحیح گردد. با این تفاسیر مشخص است که نمی توان به سادگی اهمیت مراحل قبلی به ویژه مرحله آماده سازی نمونه را نادیده گرفت.

۱-۱-۱- تجزیه ی کمی و کیفی

به ندرت یک روش منحصر به فرد برای طراحی فرآیند اندازه گیری وجود داشته و تلفیقی از روش ها برای این فرآیند مناسب تر می باشد. مطالعات مختلف دارای اهداف و محدودیت های مالی متفاوتی بوده و توسط افراد متفاوتی که دارای تجارب متفاوت هستند انجام می پذیرد. مهم ترین مرحله در طراحی مطالعه

تعیین اهداف و ایجاد تصویری از نتایج نهایی آن می باشد. انجام این فرآیند در نهایت باید اطلاعات سودمندی را برای حل مشکل مورد نظر در اختیار کاربران قرار دهد.



شکل ۱-۲- مراحل رایج مورد نیاز در طی فرآیند آماده سازی نمونه ها

هدف از انجام یک اندازه گیری تجزیه ای می تواند دستیابی به اطلاعات کمی یا کیفی باشد. برای مثال حضور اسید هیپوریک در ادرار موضوع مهمی می باشد. سؤال هایی که در این رابطه ممکن است ایجاد گردد عبارت است از اینکه آیا در ادرار کارگران ترکیب اسید هیپوریک وجود دارد؟ اگر وجود دارد مقدار آن چقدر است؟ زمانی که هدف از مطالعه تعیین وجود اسید هیپوریک در ادرار است، تجزیه از نوع کیفی^۱ می باشد. اما وقتی هدف مطالعه علاوه بر مشخص شدن حضور اسید هیپوریک، تعیین مقدار آن نیز باشد تجزیه از نوع کمی^۲ می باشد. دیگر طبقه بندی مهم در این زمینه تجزیه ی نیمه کیفی^۳ می باشد. در تجزیه ی نیمه کیفی تعیین مقدار دقیق مهم نبوده و فقط قرارگیری یک مقدار بالاتر یا پایین تر از حد آستانه معین مورد نظر است. به عنوان نمونه به مثال زیر توجه نمایید. تست بررسی آنتی ژن ویژه پروستات (PSA)^۴ برای غربالگری سرطان پروستات یکی از این مثال ها می باشد. مقدار آنتی ژن ویژه پروستات 4 ng/L (یا بالاتر) نشان دهنده ریسک بالای ابتلاء به سرطان پروستات است. در اینجا هدف تعیین این است که آیا مقدار آنتی ژن ویژه پروستات از 4 ng/L بالاتر است یا خیر.

زمانی که آنالیت های هدف و روش های تجزیه ای آن شناسایی گردید، روش های تجزیه ای مورد استفاده باید از نظر صحت، دقت، هزینه و محدودیت های مرتبط دیگر مورد بررسی قرار گیرند. همچنین مقدار نیروی انسانی، زمان مورد نیاز برای آنالیزها و میزان اتومانیزه بودن^۵ روش نیز می تواند مهم باشد.

1-Qualitative Analysis

2-Quantitative Analysis

3-Semi Qualitative Analysis

4-Prostate Specific Antigen

5-Automation

۱-۱-۲- روش های کمی سازی

تقریباً همه فرآیندهای اندازه گیری شامل مراحل آماده سازی و تجزیه ی نمونه ها بوده و نیازمند کالیبراسیون با استانداردهای مواد شیمیایی می باشند. ارتباط میان سیگنال یک آشکارساز و مقدار آنالیت به واسطه پاسخ های ثبت شده از کمیت های معلوم به دست می آید. به طور مثال، در انجام یک مرحله استخراج، افزودن مقدار مشخصی از یک آنالیت به ماتریکس برای اندازه گیری مقدار بازیافت آن دارای اهمیت می باشد. انجام چنین فرآیندی نیاز به استانداردهایی دارد که ممکن است در آزمایشگاه آماده یا از منابع تجاری تهیه شده باشد. یکی از ملاحظات مهم در انتخاب استانداردها، نوع ماتریکس آن می باشد. برای برخی از ابزارهای تجزیه ای مانند فلورسانس اشعه X، نوع ماتریکس نمونه خیلی مهم می باشد. علی رغم اینکه ممکن است این مسأله برای دیگر روش ها حائز اهمیت نباشد. آماده سازی نمونه ها معمولاً وابسته به ماهیت ماتریکس می باشد. برای مثال، استخراج هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs)^۱ از دانه های ماسه به وسیله روش استخراج سیال فوق بحرانی^۲ ممکن است کار آسانی باشد. اما این استخراج از یک خاک فرسوده که دارای مقدار بالایی مواد آلی است کار ساده ای به نظر نمی رسد.

۱-۱-۳- منحنی های کالیبراسیون

متداول ترین روش کالیبراسیون برای استانداردها با غلظت معین، پوشش دادن محدوده غلظتی مورد انتظار در نمونه می باشد. محدوده غلظتی نمونه های استاندارد باید نزدیک به ماتریکس نمونه های واقعی باشد. برای مثال، اگر نمونه مجهول به داخل حلال آلی معینی استخراج شود، استانداردها باید در حلال مشابه تهیه شوند. منحنی کالیبراسیون به صورت نموداری از پاسخ آشکارساز (دستگاه تجزیه) و تابعی از غلظت آنالیت هدف می باشد. نمونه ای از یک منحنی کالیبراسیون در شکل ۳-۱ نشان داده شده است. این منحنی برای تعیین مقدار آنالیت در نمونه های مجهول استفاده می شود. کالیبراسیون می تواند به دو روش انجام شود که بهترین آن در مثال زیر نشان داده شده است. فرض کنید می خواهیم مقدار سرب را در نمونه های خاک بررسی نماییم. روش تجزیه ای عبارت است از آماده سازی و استخراج توسط اسید و در نهایت تجزیه ی نمونه با استفاده از روش جذب اتمی.

نمونه استاندارد را می توان به وسیله ترکیب خاک تمیز با مقدار معینی از سرب آماده نمود. سپس نمونه های استاندارد به صورت مشابه با نمونه مجهول، آماده سازی و تجزیه خواهند شد. در نهایت پاسخ

1-Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

2-Supercritical Extraction

دستگاه به صورت تابعی از غلظت رسم می شود. روش دوم کالیبراسیون استفاده از نمونه های استاندارد برای کالیبره کردن دستگاه جذب اتمی می باشد. رویکرد اول دارای صحت بالا اما روش دوم ساده تر می باشد. روش کالیبراسیونی که در فرآیند خود اثرات ماتریکس را هم مورد لحاظ قرار دهد، روش استاندارد افزایشی می باشد.

۲-۱- خطاهای تجزیه ی کمی: صحت و دقت

همه اندازه گیری ها همراه با مقدار معینی خطا بوده و تخمین دامنه این خطاها برای اعتبار نتایج ضروری می باشد. حذف خطا به طور کامل امکان پذیر نمی باشد. با این وجود، وسعت و ماهیت خطا قابل شناسایی می باشد. با استفاده از روش های آماده سازی و تجزیه ای توسعه یافته، میزان خطاها را می توان به حداقل ممکن کاهش داد. به طور کلی خطاها را می توان به دو دسته تصادفی و سیستماتیک دسته بندی نمود. در اکثر اوقات به دنبال تکرار یک آزمایش، نتایج کاملاً برابری در هر بار آزمایش به دست نخواهد آمد و نتایج حاصله دارای یک انحراف معیار از میانگین می باشند. این نوع خطا (برابر نبودن نتایج هر بار آزمایش) ناشی از فاکتورهای ناشناخته و طبیعی متعددی می باشد که به آن ها خطاهای تصادفی گفته می شود. معمولاً مقادیر به دست آمده دارای توزیع نرمال (توزیع زنگوله ای شکل) می باشند و در یک محدوده ی مشخص کمتر یا بیشتر از مقدار میانگین قرار می گیرند. از طرف دیگر، خطاهای سیستماتیک ناشی از تمایل اندازه گیری ها به یک جهت خاص می باشد. خطاهای سیستماتیک از طریق بررسی میزان انحراف از مقدار واقعی تعیین می شوند.

۱-۲-۱- صحت

میزان صحت عبارت است از اختلاف (انحراف) مقدار اندازه گیری شده از مقدار واقعی که به نوعی بیانگر میزان خطای سیستماتیک خواهد بود. در اغلب اوقات به منظور برآورد میزان اختلاف از مقدار واقعی از رابطه ی ذیل استفاده می گردد:

$$\text{میزان صحت} = \frac{\text{مقدار اندازه گیری شده} - \text{مقدار واقعی}}{\text{مقدار واقعی}}$$

مقدار واقعی ممکن است نامشخص باشد. به منظور مقایسه میزان صحت در روش های متفاوت، از میزان صحت ارائه شده در روش های استاندارد یا مقادیر انتشار یافته توسط موسسات معتبر استفاده می گردد.

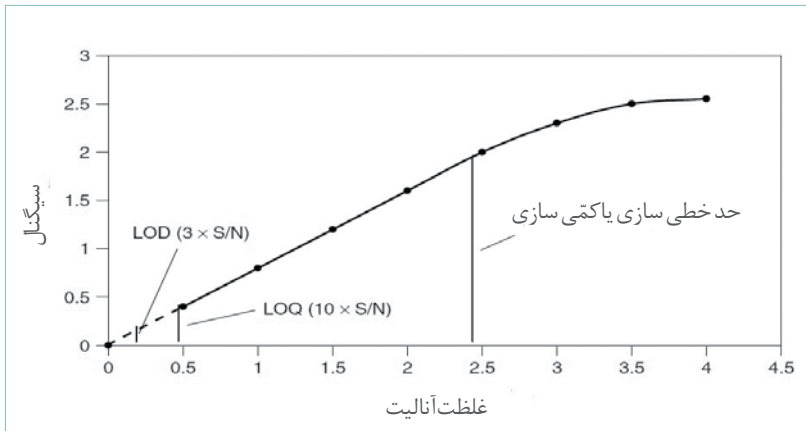
جدول ۱-۱- روش های متداول تجزیه ی نمونه ها و مراحل ضروری آماده سازی نمونه قبل از آنالیز

آنالیت ها	آماده سازی نمونه	وسایل تجزیه
مواد آلی	استخراج، تغلیظ، شستشو، مشتق سازی	GC ^۱ ، HPLC ^۲ ، GC/MS ^۳ ، LC/MS
مواد آلی فرار	انتقال به فاز بخار، تغلیظ	GC، GC-MS
فلزات	استخراج، تغلیظ، گونه زایی*	AA ^۴ ، GFAA ^۵ ، ICP ^۶ ، ICP/MS
فلزات	استخراج، مشتق سازی، تغلیظ، گونه زایی	یون کروماتوگرافی، UV ^۷ -VIS اسپکتروفتومتری جذبی مولکولی
یون ها	استخراج، تغلیظ، مشتق سازی	IC ^۸ ، UV-VIS
DNA/RNA	لیز کردن سلول، استخراج، واکنش زنجیره ای پلیمرز	الکتروفورز، فلورسانس، UV-VIS
آمینو اسیدها، چربی ها، کربوهیدرات ها	استخراج، شستشو	GC، HPLC و الکتروفورز
ساختارهای میکروسکوپی	سونش**، پرداخت (صیقل دادن)، تکنیک های یونی انفعالی، بمباران یونی	ذره بینی (میکروسکوپی)، اسپکتروسکوپی سطحی

گونه زایی (Speciation): گونه زایی هر عنصر عبارت است از شناسایی و تعیین فرم های فیزیکی - شیمیایی منحصر به فرد یک عنصر که با هم (مجموع همه فرم ها) میزان غلظت کلی آن عنصر را در نمونه تشکیل می دهند.

**سونش (Etching): به فرآیند پرداخت و لایه برداری از روی سطوح مواد آلی یا معدنی و ایجاد فرورفتگی در آن ها به کمک یک ماده خورنده گویند. این فرآیند معمولاً به دو صورت خشک یا مرطوب انجام می شود. در روش خشک اقدام به برداشتن لایه هایی از روی سطح ماده مورد نظر به صورت فیزیکی و مکانیکی می شود. ابزار به کار گرفته شده بسته به ابعاد قطعه و ظرافت ساختار نهایی از سوهان تا شلیک یون متفاوت است. در روش مرطوب معمولاً از مواد خورنده شیمیایی برای این کار استفاده می شود به همین دلیل این روش به اسم سونش شیمیایی نیز شناخته می شود.

- 1-Gas Chromatography
- 2-High-performance liquid Chromatography
- 3-Gas Chromatography - Mass Spectroscopy
- 4-Atomic absorption
- 5-Graphite furnace atomic absorption
- 6-Inductively coupled plasma
- 7-Ultraviolet-visible molecular absorption spectroscopy
- 8-Ion Chromatography



شکل ۱-۳- نمونه ای از یک منحنی کالیبراسیون

۲-۲-۱- دقت

میزان دقت، به معنای میزان تکرار پذیری نتایج حاصله می باشد که به نوعی بیانگر خطاهای تصادفی است. با توجه به اینکه در تمامی اندازه گیری ها یک مقدار خطای تصادفی وجود دارد، نمی توان نتیجه حاصل از یک آزمایش را به عنوان مقدار واقعی پذیرفت. به منظور برآورد خطاهای تصادفی، ممکن است پیش بینی کردن یک محدوده انحراف از مقدار واقعی نتایج نادرستی را به دنبال داشته باشد و نتایج بهتر و واقعی تر را می توان از طریق تکرار نمودن آزمایش به دست آورد. در این فرآیند دو پارامتر اصلی شامل میانگین و انحراف معیار نتایج مدنظر می باشند. در سطح گسترده ای به منظور برآورد مقدار میانگین ($\bar{x}$) از رابطه زیر استفاده می گردد:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{رابطه ۱-۱}$$

در اینجا $\sum x_i$ بیانگر مجموع نتیجه به دست آمده در هر بار آزمایش و n بیانگر تعداد بار آزمایش می باشد. از آنجاکه خطاهای تصادفی دارای توزیع نرمال هستند، پرتکرارترین مقدار انحراف از میانگین (یا میزان دقت) به عنوان انحراف معیار (σ) مشخص می شود. مقدار انحراف انحراف از طریق رابطه ی ذیل برآورد می گردد:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad \text{رابطه ۱-۲}$$

در شرایطی که نتایج به دست آمده در یک محدوده کوچک قرار گرفته باشد (محدود شده باشد)، معمولاً مقدار میانگین نزدیک به مقدار اصلی برآورد خواهد شد و در این شرایط ممکن است مقدار انحراف معیار کمتر از مقدار پیش بینی شده توسط رابطه بالا باشد. در این موارد، به منظور برآورد انحراف معیار از رابطه ی ذیل استفاده می گردد:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{رابطه ۱-۳}$$

در شرایطی که تعداد آزمایشات بالا باشد، مقدار انحراف معیار به دست آمده از رابطه ۱-۱ (σ) نزدیک به مقدار حاصل از رابطه ۲-۲ (s) می باشد. معمولاً زمانی که تعداد آزمایشات (n) بزرگتر از ۲۰ باشد، از رابطه ۱-۲ (σ) استفاده می شود. یک عبارت رایج در تعیین تغییرات (انحراف)، میانگین ضریب تغییرات (CV)^۱ یا انحراف معیار نسبی (RSD)^۲ می باشد که معمولاً به صورت درصد بیان می شوند.

$$D = \frac{S}{\bar{X}} \quad \text{یا} \quad RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه ۱-۴}$$

از انحراف معیار نسبی به عنوان یک پارامتر بیان کننده میزان دقت در علوم تحلیلی و آماری استفاده می شود.

زمانی که به منظور تجزیه ی نمونه به فرآیند آماده سازی نیاز باشد، پارامتر دقت دارای اهمیت ویژه ای می باشد. همچنین میزان تغییرات می تواند بر میزان دقت تأثیرگذار باشد. یک نکته مشخص شده در فرآیند تجزیه ی نمونه ها این است که به دنبال کاهش غلظت آنالیت مدنظر در نمونه، به طور نامتناسبی میزان تکرار پذیری نتایج کاهش می یابد.

در رابطه با بررسی دقت روش های تجزیه به چند اصطلاح مهم دیگر نیز بایستی توجه و این پارامترها را تعیین نمود. این پارامترها شامل بررسی دقت روش با انجام آزمایشات در چند روز مختلف^۳ و بررسی دقت در یک روز^۴ طی چندین آنالیز می باشد. برای تعیین تکرار پذیری روش در یک روز باید نمونه های مورد نظر را چندین مرتبه آنالیز نموده و پس از تعیین میانگین و انحراف معیار، تکرار پذیری را در قالب انحراف معیار نسبی بیان نمود. جهت بررسی تکرار پذیری در بین چندین روز نیز بایستی نمونه ها را در چند روز جدا از هم آنالیز و پس از تعیین میانگین و انحراف معیار، تکرار پذیری روش را در قالب انحراف معیار نسبی ارائه شود. به طور مثال به منظور تعیین میزان تکرار پذیری روش تجزیه نمونه حاوی بنزن با استفاده از دستگاه

1-Coefficient of Variation

2-Relative Standard Deviation

3-Inter-day

4-Intra-day

کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکار ساز شعله ای- یونی ، یک نمونه استاندارد با غلظت مشخص را تهیه کرده و در ۷ روز مختلف به دستگاه کروماتوگرافی گازی (با در نظر گرفتن شرایط یکسان برای دستگاه در روزهای مختلف) تزریق می گردد. در صورتی که پس از تعیین غلظت نمونه های تزریق شده به دستگاه در روزهای مختلف نتایج ذیل حاصل گردد.

غلظت بنزن (میکروگرم بر لیتر)	شماره تزریق
۱۲/۴۴	۱
۱۱/۵۷	۲
۱۱/۹۲	۳
۱۱/۸۴	۴
۱۲/۷۵	۵
۱۲/۳۲	۶
۱۱/۸۵	۷

میانگین غلظت بنزن در نمونه ها در ۷ روز مختلف برابر با ۱۲/۲۷ میلی گرم بر لیتر و براساس رابطه ۲-۱ میزان انحراف معیار آنالیزها برابر با ۰/۴۹۸ می باشد. لذا براساس رابطه ۴-۱ می توان گفت که انحراف معیار نسبی روش برابر با ۰/۴۰۶ و به عبارت دیگر میزان تکرار پذیری برابر با ۴/۰۶ درصد می باشد.

همان طور که در شکل ۴-۱ مشاهده می شود، میزان عدم قطعیت مربوط به تجزیه ی نمونه های حاوی مقدار بالایی از آنالیت^۱، مقدار کمی از آنالیت^۲ و مقدار ناچیزی از آنالیت^۳ به ترتیب به طور نمایی افزایش می یابد. در صورتی که فرآیند تجزیه ی نمونه نیاز به انجام مرحله آماده سازی باشد، به مقدار انحراف (عدم قطعیت) ارائه شده در شکل ۴-۱ اضافه می شود. ممکن است به طور محتاطانه فرض کنیم که به دنبال کاهش غلظت آنالیت در نمونه میزان عدم قطعیت مربوط به مرحله آماده سازی افزایش می یابد. به طور کلی، ابزارهای آماری و تحلیلی مربوط به تجزیه ی نمونه ها دارای فرآیند کاملاً پیچیده ای بوده که فراهم کننده سطوح بالایی از دقت و صحت می باشند.

از طرف دیگر، مرحله آماده سازی نمونه در اغلب مواقع موجب افزایش میزان تغییرات در نتایج حاصله می شود. بر می گردیم به مثال میزان غلظت اسید هیپوریک در ادار که تجزیه نهایی آن توسط دستگاه گاز

1-Major Component

2-Minor Component

3-Trace Component

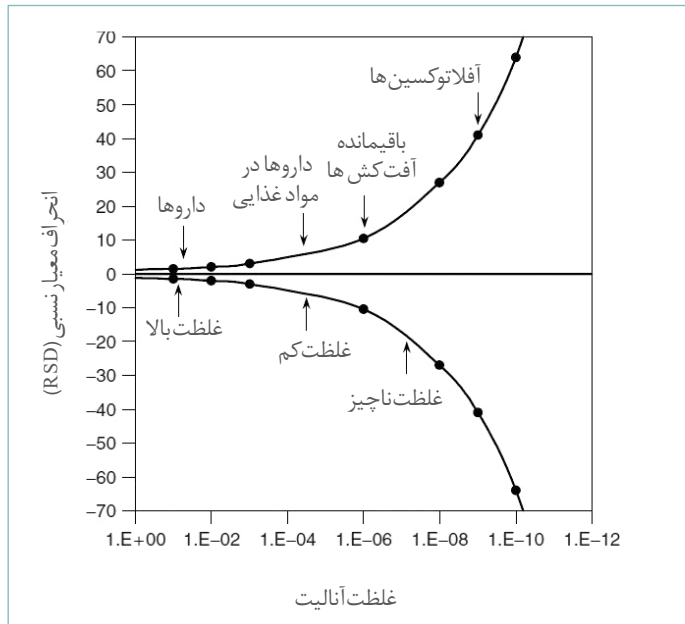
کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی (HPLC^۱) انجام شده است. در اینجا فرآیند آماده سازی نمونه شامل ایجاد یک ترکیب همگن از نمونه ادرار از طریق هم زدن آن با استفاده از سانتریفیوژ کردن، اضافه کردن سدیم کلراید به نمونه، اضافه کردن اتیل استات به نمونه، استخراج آنالیت با استفاده از فرآیند استخراج مایع-مایع و در نهایت تغلیظ و پاکسازی عصاره به دست آمده می باشد. آماده سازی نمونه ممکن است چندین ساعت به طول انجامد در حالی که فرآیند تجزیه در طی چند دقیقه توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی صورت می پذیرد. فرآیند آماده سازی دربرگیرنده چندین مرحله مجزا می باشد که به صورت دستی انجام می شوند. در نتیجه هر دو نوع خطای تصادفی و سیستماتیک در فرآیند آماده سازی نمونه بالاتر از تجزیه ی نمونه می باشد.

میزان خطای حاصل از فرآیند آماده سازی وابسته به سهم نسبی آن از کل فرآیند اندازه گیری آنالیت می باشد. به طور مثال، معمولاً ۲/۳ از کل زمان فرآیند اندازه گیری آنالیت توسط روش کروماتوگرافی، مربوط به فرآیند آماده سازی نمونه می باشد. به طور مثال در مطالعه ای فرآیند تجزیه آنالیت اولانزوپین^۲ سِرُم توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی متصل به طیف بین جرمی انجام شده است. در مطالعه مذکور فرآیند آماده سازی از طریق اضافه کردن استاندارد داخلی و پاکسازی توسط کارتریج استخراج فاز جامد (SPE^۳) و کمی سازی نتایج با استفاده از منحنی کالیبراسیون انجام شده است. درصد بازیافت حاصل از ۳ آزمایش برابر با ۸۷±۴٪ بوده در حالی که تکرارپذیری حاصل از ۱۰ بار آزمایش برابر با ۱-۲٪ می باشد. جریات حاصل از بررسی خطاهای حاصله نشان می دهد که ۷۵٪ از عدم قطعیت حاصله مربوط به روش استخراج فاز جامد و ۲۵٪ باقی مانده مربوط به روش های تجزیه ای می باشد، به طوری که ۲۴٪ از عدم قطعیت مربوط به فرآیند کالیبراسیون و ۱٪ باقی مانده مربوط به تغییرات در حجم سِرُم مورد بررسی می باشد. بایستی به این نکته توجه داشت که فرآیند بهبود کالیبراسیون آسان تر از فرآیند بهبود خطاهای ناشی از استخراج فاز جامد می باشد، چراکه خطاهای ناشی از این روش مربوط به کارتریج، مراحل شستن، استخراج، خشک کردن و شستشوی ثانویه می باشد که به منظور کاهش خطاهای ناشی از آن ها بایستی پارامترهای متعددی تحت کنترل قرار گیرند. برخی از اقدامات و رویه های لازم جهت کاهش میزان عدم قطعیت های ناشی از فرآیند آماده سازی نمونه در ذیل ارائه گردیده است.

1-High-performance liquid Chromatography

2-Olanzapine

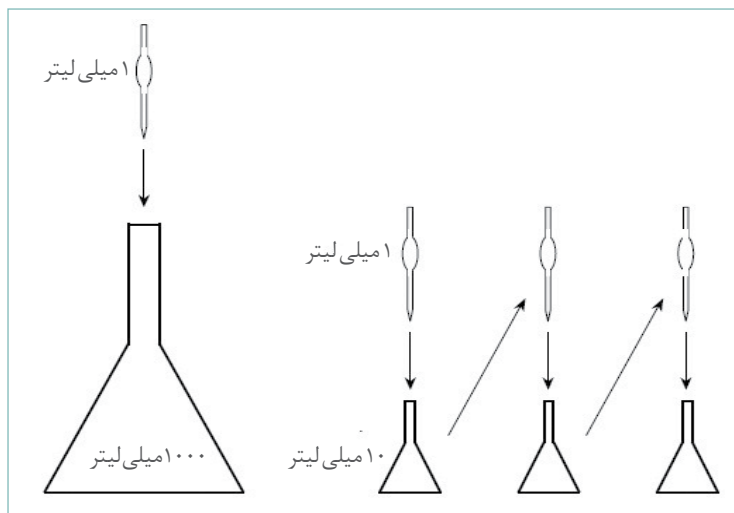
3-Solide Phase Extraction



شکل ۱-۴- میزان تکرارپذیری (دقت) به عنوان تابعی از غلظت آنالیت در طی فرآیند تحلیل نتایج

به حداقل رساندن تعداد مراحل

در مثال بالا، ۷۵٪ از خطاها مربوط به فرآیند آماده سازی نمونه می باشد. هنگامی که فرآیند آماده سازی شامل چندین مرحله باشد (مانند شکل ۱-۲)، متعاقباً عدم قطعیت ناشی از عوامل متعددی خواهد بود. به عنوان مثال، در شکل ۱-۵، یک فرآیند ترقیق نمونه به تصویر کشیده شده است. این مثال بیانگر ترقیق نمونه به اندازه ۱۰۰۰ برابر نمونه اولیه در طی یک مرحله می باشد. (۱ میلی لیتر به ۱۰۰۰ میلی لیتر). همین فرآیند را در طی ۳ مرحله می توان انجام داد: در هر مرحله ۱۰ برابر رقیق سازی. در فرآیند ترقیق یک مرحله ای، عدم قطعیت های حاصله مربوط به خطاهای حجم پیپت و بالن مورد استفاده می باشد در حالی که در طی فرآیند ترقیق سازی سه مرحله ای از ۳ نوع پیپت و بالن استفاده شده و در نتیجه عدم قطعیت ناشی از حجم پیپت و بالن ها چند برابر خواهد شد. تجزیه و تحلیل دقیق خطاها نشان می دهد که میزان عدم قطعیت رقیق سازی یک مرحله ای کمتر از نیمی از عدم قطعیت رقیق سازی سه مرحله ای می باشد.



شکل ۱-۵- فرآیند ترقیق سازی یک و سه مرحله ای یک نمونه به میزان ۱۰۰۰ برابر

در حالت ایده آل، حتی الامکان بایستی یک یا چند مرحله از فرآیند آماده سازی نمونه (شکل ۱-۲) حذف گردد، چراکه به دنبال افزایش تعداد مراحل آماده سازی نمونه، میزان خطاهای حاصله افزایش خواهد یافت. به طور مثال، با استفاده از یک روش استخراج انتخابی می توان فرآیند پاکسازی نمونه را حذف کرد. زیرا در فرآیند استخراج انتخابی تنها آنالیت هدف استخراج شده و میزان غلظت ترکیبات مداخله گر به حداقل خود کاهش می یابد و دیگر نیازی به انجام فرآیند پاکسازی نمونه نمی باشد.

استفاده از روش مناسب

برخی از روش ها دارای تغییرات و خطای بیشتری نسبت به سایر روش ها می باشند، لذا انتخاب روش مناسب می تواند موجب بهبود دقت روش شود. به عنوان مثال در برداشت حجم های کمتر از ۲۰ میلی لیتر، استفاده از سرنگ دارای دقت بیشتری نسبت به پیت می باشد. در برداشت حجم های زیاد می توان از روش های دستی (استفاده از پیت) استفاده کرد اما نتایج مربوط به رقیق سازی آن ها دارای حساسیت پایینی می باشد. هدف ما بایست استفاده از رویه های آماده سازی و تجزیه ی نمونه با تعداد مراحل کمتر و به دنبال آن کاهش میزان انحراف معیار نسبی نتایج حاصله باشد. در روش های اتومانیزه شده (اتوماتیک)، در طی انجام فرآیند آماده سازی و استخراج کمتر از دست کمک گرفته می شود، لذا این روش ها دارای دقت بالاتری نسبت به روش های دستی می باشند.