در بحث آنالیز دو واژه داریم: آنالیز شیمیایی و سنجش شیمیایی.

این دو مفهوم با اینکه با هم تفاوت دارند ولی ممکن است اشتباه آن به جای هم استفاده شوند. آنالیز شیمیایی مربوط است به کلیه اقداماتی که برای آنالیز بر روی نمونه انجام می‌دهیم که شامل نمونه برداری، عملیات فیزیکی و شیمیایی جهت آماده سازی نمونه و اندازه گیری(آزمایشگاهی یا غیر آزمایشگاهی) می شود.

سنجش شیمیایی تنها شامل مرحله اندازه‌گیری می‌شود (آماده سازی و جداسازی مطرح نیست). تجزیه شیمیایی بر اساس چگونگی انجام آن به دو دسته ی کلاسیک و دستگاهی تقسیم می‌شود. در نوع کلاسیک، ما از یک سری وسایل کلاسیک استفاده می‌کنیم(مواد شیمیایی، ترازو، ظرف شیشه‌ای مدرج و لوازم آزمایشگاهی ساده) مثل زمانی که می‌خواهیم محلول با غلظت معین بسازیم. در حالی که در نوع دستگاهی، علاوه بر مواد و وسایلی که در تجزیه شیمیایی کلاسیک استفاده می‌کنیم، به یک دستگاه تجزیه ای نیاز داریم. دقت شود که هر دو روش کلاسیک و دستگاهی می‌توانند برای سنجش های کمی و کیفی استفاده شوند.

اندازه گیری کمی مثل تعیین مقدار، تعیین غلظت یک یون یا مقدار یک فلز که این اندازه گیری ها می تواند در بستر های مختلف(نمونه بیولوژیکی یا سنتزی یا...) باشد.

منظور از اندازه گیری کیفی، تشخیص نوع و ماهیت نمونه است مثلاً طبق دانسته های قبلی مان می‌دانیم هر ماده‌ای در یک طول موج مخصوص peak می‌دهد. آن اگر ما مخلوطی از مواد داشته باشیم بر اساس peak هایی که نشان می‌دهد می‌توانیم نوع مواد مخلوط شده را تعیین کنیم.

بیان کردیم که برای آنالیز تجزیه دستگاهی نیاز به دستگاه های تجزیه ای داریم که تجهیزاتی هستند که خواص شیمیایی و فیزیکی جسم مورد نظر را اندازه گیری می کنند. خواص شیمیایی مثل نوع گروه های عاملی، میزان جذب UV و میزان فلورسانس و خواص فیزیکی مثل نقطه ذوب و ضریب شکست که برای سنجش هرکدام از این خواص، نیاز به دستگاه خاصی است. روش های تجزیه دستگاهی از سال ۱۹۴۰ به طور یکباره گسترش پیدا کردند و علت آن هم کاربردشان در صنعت و فعالیت‌های پژوهشی بود و دارای حساسیت بالایی بودند. این دستگاه ها مشخصه مشترکی که دارند، این است که با جریان برق کار می کنند اما اصول عملکردی اینها با هم خیلی متفاوت است. در حقیقت شناخت خوب از اصول عملکرد این دستگاه ها منجر به توانایی استفاده مناسب از آن ها می شود (اینکه از کدام دستگاه برای کدام نمونه و در چه موقعیتی استفاده کنیم)

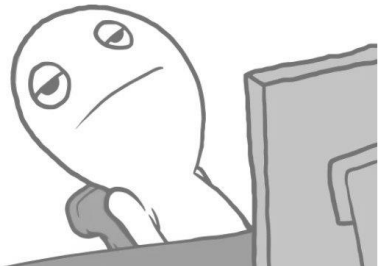
تجزیه دستگاهی به سه روش کلی انجام می‌شود:

✓ روش های جداسازی
✓ روش های الکتروشیمیایی
✓ روش های طیفی
که هدف ما در این درس آشنا شدن با این روش هاست

روش های طیفی

مهمترین زیرمجموعه ی روش های دستگاهی محسوب می شود. از نظر تاریخی طیف سنجی به شاخه ای از علم برمی‌گردد که از نور مرئی برای مطالعات نظری و ساختار ماده و آنالیز آنها استفاده می کردند. اما امروزه نه فقط برای نور مرئی بلکه برای شکل های مختلف تابش مثل الکترومغناطیسی و غیر الکترومغناطیسی، این روش های کیفی را به کار می‌بریم. این روش ها بر اساس برهمکنش تابش با ماده و اندازه گیری میزان آن بنا نهاده شده است. یعنی نور به ماده برخورد کرده و از این برخورد یک سیگنال ایجاد می‌شود که این سیگنال را می‌توان به خصوصیت یا مقدار آن ماده نسبت داد. تمامی روشهای طیفی یک خروجی دارند که طیف نامیده می‌شود و وسیله‌ای که این طیف را برای ما ایجاد می کند، طیف سنج یا اسپکترومتر نام دارد.
روش های طیفی شامل:

- طیف سنجی جذب مرئی-فرابنفش
- طیف سنجی جذب زیرقرمز و رامان
- فلوئورسانی سنجی و فسفرسانی سنجی
- طیف سنجی تشدید مغناطیسی هسته
- قطبش سنجی
- کدرسنجی
- شکست سنجی
- روش های پرتو X



روش های الکتروشیمیایی

منشا این روشها یک واکنش اکسایش و کاهش است و در این دسته از واکنش‌ها مبادله الکترون صورت می‌گیرد. در این روشها یک علامت الکتریکی(مثل ولتاژ یا جریان) بر نمونه اعمال می‌شود یا خواص الکتریکی آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد. این روشها شامل پتانسیل سنجی، پلاروگرافی، آمپرسنجی، کولن سنجی، وزن سنجی و هدایت سنجی می باشد که در این درس خیلی وارد مباحث الکتروشیمی نمی‌شویم اما پتانسیل سنجی را به طور کامل بحث می‌کنیم چون اساس بیوسنسورهایی است که امروزه برای شناسایی مواد دارویی و اندازه گیری مواد درون بدن به کار می روند.

روش های جداسازی

این روش ها بر اساس جداسازی بنا نهاده شده اند یعنی یکی از مهمترین کارکردها و اهداف این روش، جداسازی اجزای یک نمونه است. از این روش‌ها می‌توان به طیف سنجی جرمی و انواع کروماتوگرافی اشاره کرد. در طیف سنجی جرمی، جداسازی براساس جرم یا وزن قطعات جدا شده مولکول است و در کروماتوگرافی، اساس جداسازی، سرعت حرکت آنها روی ستون‌ها یا سطوح مختلف(کاغذهای TLC) است.

در آنالیز یک ماده شیمیایی، اغلب پیش می آید که ما با گستره ای از روش ها رو به رو هستیم و این امکان وجود دارد که از چند روش بتوان استفاده کرد اما گاهی یک روش کافی است. مثل زمانی که ما یک ماده تجاری را خریده و می‌خواهیم بررسی کنیم آیا این ماده همان ماده ی مورد نظر است یا نه. اگر این ماده جامد باشد کافی است نقطه ذوب آن را به دست آورده و با نقطه ذوب درون مرجع ها مقایسه کنیم.

اما گاهی برای آنالیز لازم است از چند روش استفاده کنیم مثلاً در آزمایشگاه ماده‌ای را برای اولین بار ساخته ایم که برای گروه های عاملی، تست IR میگیریم یا با HNMR ، موقعیت هیدروژن ها یا با CNMR ، موقعیت کربن ها را بررسی میکنیم یا با آنالیز عنصری، دقیقا ترکیب و درصد عناصر را مشخص میکنیم. پس زمانی که نیاز داریم از روشهای مختلف استفاده کنیم این سوال پیش می آید که از کدام روش و کدام دستگاه استفاده کنیم.

در کل برای ارزیابی کیفیت عملکرد دستگاه آنالیزی، یک سری پارامترهایی داریم تا بر اساس آن پارامترها، هم نتایج را به صورت یکپارچه و قابل فهم تر بیان کنیم و هم برای مقایسه ی عملکرد روش تجزیه ای و دستگاه ها از آنها استفاده کنیم که به این پارامترها ارقام شایستگی یا **figures of merit** گفته می شود.

تعدادی از مهمترین ارقام شایستگی که باید برای روش های تجزیه ای مورد بررسی قرار بگیرند عبارتند از: دقت، صحت، حساسیت، حد تشخیص، محدوده دینامیک خطی، قابلیت آشکارسازی، حد تعیین یا کمی بودن. در حقیقت اینها معیار هایی هستند که ما توسط آنها روش و دستگاه‌های آنالیزی را انتخاب می کنیم. البته این پارامترها حالت کلی هستند. از آنجایی که این ارقام شایستگی باید دربرگیرنده کلیه ی پارامترهای یک روش اندازه گیری باشند، به خاطر همین ممکن است برای یک دستگاه، به تعداد این ها اضافه شود. مثلاً زمانی که با کروماتوگرافی سر و کار داریم، زمان یا حجمِ بازداری هم برای ما مهم است پس جزو ارقام شایستگی محسوب می‌شوند.

(**ویرایش نهایی**: حجم بازداری را به صورت حجم فاز متحرک، از زمان تزریق تا زمان بازداری متناظر با مولکول مورد نظر تعریف می‌کنند و درجه و قدرت ماندگاری یک مولکول بر روی ستون، با اندازه گیری زمان و یا **حجم بازداری** نشان داده می شود)

دقت

اولین معیاری که باید برای انتخاب روش دستگاهی در نظر بگیریم، دقت است. از این اصطلاح برای توصیف تکرارپذیری روش استفاده میشود یا به عبارتی دقت همان تکرارپذیری یک نتیجه یا نزدیکی نتایج به یکدیگر است. یعنی هرچه نتایج تکرار پذیر تر باشد و نتایج به هم نزدیک‌تر باشند، دقت آن بیشتر است.

دقت بیان کننده میزان خطای تصادفی در آزمایش است و دقت را با کمیت های مختلفی میتوانیم به صورت عددی به دست بیاوریم که این کمیت ها عبارتند از انحراف استاندارد واریانس و انحراف استاندارد نسبی دامنه یا گستره انحراف از میانگین که همگی آنها را به طور کامل در شیمی تجزیه خوانده ایم.

ما معمولاً یک آزمایش را چندین بار تکرار میکنیم چون ممکن است خطای تصادفی داشته باشیم که با این تکرار کردن، میزان خطا کمتر می شود. وقتی یک آزمایش را n بار تکرار می کنیم، میانگین نتایج را به صورت محتمل‌ترین نتیجه بیان می‌کنیم. از مقایسه میانگین با داده ها مشخص می شود یک مقدار انحراف از حالت میانگین برای هر داده ای وجود دارد که این انحراف می تواند مثبت یا منفی باشد یا به عبارتی، داده ی هر آزمایش می‌تواند از میانگین بزرگتر یا کوچکتر باشد. اگر انحراف از معیار را به توان ۲ برسانیم و از مجموع آنها میانگین بگیریم و در نهایت یک رادیکال بگیریم، کمیتی به نام انحراف استاندارد به وجود می‌آید که نشان دهنده خطای تصادفی است. در حقیقت دقت آزمایش را به صورت کمی با استفاده از انحراف استاندارد می‌توان به دست آورد.

آنرا با سیگما یا σ نیز نشان می دهند

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

اصطلاح دیگری که برای دقت به کار برده می شود واریانس است که به توان ۲ انحراف استاندارد می باشد. دلیل استفاده از واریانس این است که در کارهای آماری کار کردن با اعداد مثبت راحت تر است و انحراف استاندارد می تواند مثبت یا منفی باشد (**ویرایش**: البته بنظر میرسد که انحراف معیار نیز همواره عددی مثبت است) ولی وقتی به توان ۲ می رسد همه اعداد مثبت میشوند و انجام عملیات آماری راحت‌تر می‌شود. پس واریانس از نظر ماهیتی فرقی با انحراف استاندارد ندارد.

کمیت بعدی برای بیان دقت، انحراف استاندارد نسبی است که نسبت انحراف استاندارد به میانگین می باشد که می تواند بر حسب درصد یا قسمت در هزار (ppt) بیان شود که وقتی بر حسب درصد باشد، به آن CV یا coefficient of variation گفته می‌شود و اگر برحسب ppt باشد به آن RSD یا relative standard deviation می گوییم.

- نسبت انحراف استاندارد به میانگین را انحراف استاندارد نسبی می نامند و بر حسب درصد یا قسمت در هزار(ppt) بیان می شود.

انحراف استاندارد

برحسب درصد $CV = (\frac{\sigma}{\bar{u}})\ X\ 100$

میانگین

برحسب ppt $RSD = (\frac{\sigma}{\bar{u}})\ X\ 1000$

دلیل استفاده از انحراف استاندارد نسبی، به دست آوردن تصویر واضح تری از کیفیت داده ها در مقایسه با زمانی است که از انحراف استاندارد استفاده می‌کنیم. پس ما به وسیله این ۴ پارامتر (انحراف استاندارد، واریانس و انحراف استاندارد نسبی (CV و RSD)) می توانیم دقت روش و خطای تصادفی آزمایش را اندازه بگیریم و اینکه از کدام پارامتر استفاده شود بسته به نوع کار ما دارد. مثلاً مواقعی که تغییرات داده ها خیلی محسوس نیست، برای مشاهده بهتر تغییرات داده ها، بهتر است از انحراف استاندارد نسبی استفاده شود.

اصطلاح های دیگر برای دقت دامنه یا گستره و انحراف از میانگین است که به نسبت انحراف استاندارد کاربرد کمتری دارند ولی بسته به کار ممکن است برای بیان دقت استفاده شود.

دامنه یا گستره: اختلاف بین بزرگترین و کوچکترین مقدار متغیر تعریف می شود

انحراف از میانگین: بیانگر تفاوت عددی مقدار تجربی و میانگین داده هاست بدون توجه به علامت ها یکی دیگر از ارقام شایستگی در انتخاب روش و دستگاه تجزیه ای، صحت دستگاه یا روش است. در واقع صحت برای تخمین نتایج تجزیه ای نسبت به مقدار مرجع به کار می‌رود و نزدیکی نتایج به دست آمده به نتیجه درست را نشان می‌دهد. صحت معمولاً برحسب خطا بیان میشود(به صورت خطای مطلق یا نسبی)

خطای مطلق: تفاوت بین مقدار مشاهده شده (Ui)با مقدار واقعی (Ut)است.

$$E = Ui-Ut$$

خطای نسبی: خطای مطلق تقسیم بر مقدار واقعی

$$Er = (\frac{Ui-Ut}{Ut}) \times 100$$

این دو ماهیتاً یکسانند فقط نوع گزارش کردنشان متفاوت است.

پارامتر بعدی در ارقام شایستگی حساسیت است. کلمه ی حساسیت در شیمی تجزیه خیلی کاربرد دارد. مثلاً روش x نسبت به عنصر منیزیم حساس است یا روش x حساس تر از روش y است یا با تغییر یک متغیر، حساسیت یک روش را بالا می‌بریم یا ....

اصطلاح حساسیت با حد تشخیص اشتباه گرفته می‌شود. حساسیت در حقیقت پاسخ دستگاه به تغییرات غلظتیِ آنالیت است یا معیاری از توانایی روش برای تشخیص تفاوت های کوچک غلظتی در نمونه های مختلف است. در آنالیز دستگاهی، ما ۳ نوع حساسیت می توانیم تعریف کنیم:

1) حساسیت درجه بندی(کالیبراسیونی): شیب نمودار کالیبراسیون / درجه بندی در فاصله ی غلظتی مورد نظر است. یعنی اگر نمودار سیگنال بر حسب غلظت را داشته باشیم، شیب این نمودار همان حساسیت درجه بندی است. که هرچه شیب این نمودار بیشتر باشد، به ازای یک تغییر کوچک در غلظت، یک تغییر بزرگ در علامت تجزیه ای(سیگنال) دیده می شود و در این حالت بیان می شود که روش حساس تر است.

$S=mc + S_{bl}$ ⟵ mشیب، cغلظت و S_{bl}سیگنال شاهد

2) حساسیت تجزیه ای: حساسیت درجه بندی نسبت به انحراف استاندارد در یک غلظت مشخص است. یعنی m بدست آمده از حساسیت درجه بندی را به انحراف استاندارد تقسیم میکنیم که هرچه انحراف استاندارد کمتر باشد، حساسیت تجزیه ای بالاتر است.

$\gamma=m/S_s$ ⟵ S_sانحراف استاندارد و mشیب خط

ویرایش نهایی: نترسید ! S_s همان SD یا σ است.

دلیل استفاده از حساسیت تجزیه ای: در حساسیت کالیبراسیونی/ درجه بندی، دقت اندازه گیری لحاظ نمی شود. ما برای اندازه گیری دقت در پارامتر حساسیت، انحراف استاندارد را که معیاری از دقت است را وارد تعریف حساسیت تجزیه ای می کنیم.

3) حساسیت جذب اتمی: به طور ویژه فقط برای طیف سنجی جذب اتمی دیده می شود و جلوتر در بحث جذب اتمی گفته می شود که چکار باید کنیم تا به یک اتم خاص، حساس شود.

معیارهای دیگری که جزو ارقام شایستگی دستگاه ها هستند:

حد تشخیص(LOD= limit of detection): کمترین غلظت ماده که دستگاه توانایی تشخیصش را دارد.

قابلیت آشکارسازی: توانایی آشکارساز در اندازه گیری کمترین میزان غلظت یا کمترین غلظتی که آشکارساز توانایی تشخیص اش را دارد. در واقع باید قابلیت آشکارساز را هم در انتخاب روش تجزیه ای در نظر بگیریم

حد خطی بودن(LOL= limit of linearity): به محدوده ای از غلظت یا علامت تجزیه ای گفته می شود که نمودار درجه بندی/ کالیبراسیون در آن محدوده خطی است. خطی بودن برای ما خیلی مهم است یعنی سیگنال با تغییر غلظت به صورت خطی تغییر کند. معمولا در غلظت های بالا یا خیلی پایین انحراف از حالت خطی بودن همواره وجود دارد ولی اگر محدوده ی خطی یک روش زیاد باشد، حسن خوبی است چون ما می توانیم محدوده ی وسیعی از غلظت ها را با این روش اندازه گیری کنیم. البته در بعضی نمونه ها نیاز نیست محدوده ی غلظت خطی خیلی بزرگ باشد.مثلا وقتی بخواهیم سدیم موجود در خون را بسنجیم، اگر در یک محدوده ی غلظتی کوچک هم خطی باشد، کافی است چون میزان سدیم موجود در خون خیلی کم است.

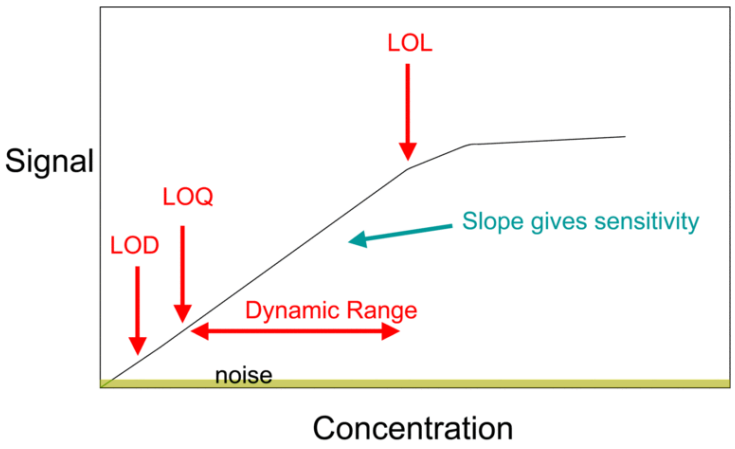
محدوده ی دینامیکی(dynamic range): محدوده ایست که به طور عملی ما میتوانیم آنالیز را در آن انجام دهیم و از نظر گستره ای شامل LOD و LOL می شود.

حد تعیین یا شناسایی(LOQ= limit of quantification): کمترین مقدار یا غلظت که ما میتوانیم با دقت و صحت قابل قبول در شرایط آزمایشگاه اندازه گیری کنیم. دقت کنید LOD() کمترین غلظتی است که دستگاه می تواند شناسایی کند که فرقش با LOQ از نظر تئوری این است که LOQ یک مقدار بیشتر از LOD است چون LOD اولین غلظت شناسایی شده توسط دستگاه است و معمولا دارای خطاهایی است. برای همین، حدود 3 برابر LOD، LOQ تعریف می شود که خطای کمتر و دقت و صحت بالاتری دارد.

اگر به طور شماتیک بررسی کنیم: LOQ از LOD بزرگتر و در محدوده ای است که مطمئن هستیم دستگاهمان جواب قابل قبول با صحت و دقت بالا گزارش میکند. dynamic range را داریم که از محدوده ی LOL(محدوده ی خطی بودن) تا کمترین غلظت قابل شناسایی توسط دستگاه است.

شیب منحنی در ناحیه ای که خطی است حساسیت را به ما نشان می دهد و LOL هم آخرین جایی است که محدوده ی ما خطی استو گفتیم هرچه LOL بزرگتر یا محدوده ی خطی بودن بزرگتر باشد، روش ها user friendly تر هستند و کاربرد بیشتری در آنالیزهای مختلف دارد.

تا اینجا دسته بندی روش های دستگاهی را گفتیم و معیارهایی که نیاز است برای انتخاب یک روش دستگاهی در نظر بگیریم را تحت عنوان ارقام شایستگی بیان کردیم



یادم می آید در یک روز بارانی

هنگامی که به آرامی در کوچه ای قدم میزدم

نوشته ای روی دیوار آجری توجهم را جلب کرد:

یکدیگر را تعمیر کنید نه تعویض

رها کردن و رفتن کار بزدل هاست اما ماندن و ساختن و صبر کردن، شجاعت میخواهد و کار هرکسی نیست...

همین موقع بود که صدای رعد، صدای جرقه ی فندک را همراهی کرد...

خودنویس

شاد و پیروز باشید