



بسته آموزشی کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

تهیه و تدوین :

احد شهنامی

کارشناس مسئول آزمایشگاه مرکز بهداشت استان

شهریور ۱۳۹۴

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بسته آموزشی

کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

این مجموعه در راستای آموزشهای کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی در گروه کارشناسان آزمایشگاه

مرکز بهداشت استان آذربایجان شرقی با مشارکت و همکاری افراد زیر تهیه و تدوین گردیده است :

۱. احد شهنامی (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس مسئول آزمایشگاه)

۲. مهدی پارسایی (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس آزمایشگاه)

۳. رضا باقری (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس آزمایشگاه)

۴. مهدی حسن زاده (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس آزمایشگاه)

۵. مهدی علیزاده (کارشناس مسئول آزمایشگاههای مرکز بهداشت هریس)

با قدردانی از همکاری صمیمانه کارشناسان آزمایشگاههای تابعه معاونت بهداشتی استان آذربایجان شرقی

زیر نظر : آقای دکتر علی محمدی

رئیس گروه کارشناسان دارو و آزمایشگاه مرکز بهداشت استان

تاریخ تهیه بسته آموزشی : شهریور ۱۳۹۴



گروه های هدف:

کارشناس آزمایشگاه - کاردان آزمایشگاه - تکنسین آزمایشگاه

اهداف آموزشی:

هدف کلی:

افزایش دانش و آگاهی پرسنل آزمایشگاههای بهداشتی در مورد کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

روش و نحوه اجرای آموزش:

با توجه به اینکه هدف این مجموعه آموزشی افزایش دانش و آگاهی کارکنان در مورد کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی میباشد بنابراین میتواند جهت ارائه بهتر مطالب به روش حضوری در قالب کارگاه آموزشی و عملی ارائه شود و یا جهت پوشش تعداد بیشتری از آموزش گیرندگان بصورت غیرحضوری و در قالب کتابخوانی انجام گیرد.

مدت دوره آموزشی : ۱۲ ساعت

ارزشیابی :

در پایان دوره بمنظور ارزیابی میزان حصول موفقیت و دستیابی به اهداف آموزشی و بررسی آگاهی، نگرش و عملکرد آموزش گیرندگان و بهبود مستمر فرآیند، یک ارزشیابی از شرکت کنندگان بصورت تستهای چهارگزینه ای بعمل خواهدآمد.

پیپت

پیپت در واقع لوله بسیار نازکی است که برای برداشتن و جا به جا کردن مقادیر بسیار کم مایع به کار می رود و در انواع پلاستیکی و شیشه ای ساخته می شود.

پیپت یا پیپتور یک لوله نازک شیشه ای است که هر دوسر آن بازاست اما روزنه یک سر آن به اندازه نوک یک قطره چکان باریک است. پیپت برای برداشتن و انتقال دادن مقادیر کم مایعات و محلولهای شیمیایی به کار می رود و معمولاً وقتی بخواهیم با دقت زیادی مقداری مایع را اندازه گیری کنیم. پیپت های شیشه ای دقیق ترین وسیله برای اندازه گیری و انتقال محلولها هستند و دقت آنها در حد میلی لیتر است. میکروپیپت وسیله ای پیچیده تر است که دقت آن در حد میکرولیتر (یک هزارم میلی لیتر) است. میکروپیپت یک مکنده قابل تنظیم همراه خود دارد که به کمک نوک های قابل تعویض به طور اتوماتیک می تواند مقدار بسیار کم و معینی را برداشت کند.

پیپت معمولی

لوله ای است شیشه ای بسیار نازک که هر دو سر آن باز است. یک سر آن باریک تر است که به آن "نوک" پیپت می گوئیم که مایع و محلول از همین قسمت وارد پیپت می شود. انتهای پیپت که به آن "دهانه" می گوئیم گشاد تر است و به وسیله انگشت مہار می شود تا مانع بیرون ریختن مایع از آن شود. همچنین در صورت استفاده از بادکش برای وارد کردن محلول به پیپت، آن را به دهانه پیپت متصل می کنیم



پیپت مدرج

یک لوله استوانه ای است که در طول آن به منظور نشان دادن مقدار محتویات آن درجه بندی شده است.

پیپت حجمی فقط یک خط به عنوان درجه دارد و در اندازه های مختلف مثلاً ۱۰، ۲۵، و ۵۰ میلی لیتری وجود دارد. هر گاه

مقدار مایع به خط درجه برسد نشان دهنده آن است که مقدار مایع موجود در آن ۱۰ یا ۲۵ یا ۵۰ میلی لیتر است. در وسط

پیپت حجمی یک برآمدگی به شکل حباب وجود دارد که ظرفیت آن را افزایش می دهد.

پیپت ها را از مواد پلاستیکی هم می سازند که در بسیاری از موارد می تواند به جای پیپت شیشه ای مورد استفاده قرار گیرد.



پیپت پاستور شیشه ای لوله ای شیشه ای است که نوک آن بسیار نازک شده است و برای برداشتن مقادیر بسیار کم مایعات

مورد استفاده قرار می گیرد. وجود بادکش لاستیکی در سر پیپت پاستور ضروری نیست چون مایعات به محض تماس با نوک

این نوع پیپت در اثر جاذبه ملکولی بین شیشه و آب یا به اصطلاح کشش سطحی به داخل آن کشیده می شود.

شستشوی وسایل در آزمایشگاه

پی پت و بورت و بالن حجم سنجی باید کاملاً تمیز و بدون چربی باشند. درغیراینصورت، نتایج غیرقابل اعتماد خواهند بود. سایر وسایل شیشه ای نیز مانند ارلن مایر، بشر و... باید کاملاً تمیز باشند. برای اینکه از تمیز بودن وسایل شیشه ای مطمئن شوید آنها را با آب مقطر پر و سپس خالی کنید، اگر یک لایه یکنواخت آب باقی ماند ظرف تمیز است ولی اگر آب بصورت قطرات جمع شود، ظرف کثیف است و باید تمیز شود. روشی که غالباً بکار می رود شامل پرکردن وسیله مورد نظر با محلول تمیز کننده و گذاشتن آن به مدت چند ساعت است. سپس محلول را خالی می کنند و وسیله را با آب معمولی چندین مرتبه شستشو داده و پس از سه تا چهار بار آبکشی با آب مقطر در جائی قرار می دهند تا خشک شود.



طرز تهیه محلول تمیز کننده:

۱- محلول تقریباً اشباع دی کرومات پتاسیم در اسید سولفوریک غلیظ: در یک بالن ۵۰۰ میلی لیتری مقاوم در برابر حرارت، ۱۰ تا ۱۵ گرم دی کرومات پتاسیم ($O_2Cr_2K_7$) را با حدود ۱۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کنید. سپس به آرامی اسید سولفوریک غلیظ بیفزائید و در همین حال بالن را کاملاً بچرخانید. با افزودن اسید، محتوی بالن بصورت یک توده قرمز نیمه جامد در خواهد آمد. اسید سولفوریک را به اندازه ای بیفزائید که این توده را کاملاً حل کند. بگذارید محلول تا اندازه ای خنک شود سپس آن را به داخل یک بطری ذخیره منتقل کنید. محلول را میتوان چندین بار مورد استفاده قرار داد تا اینکه به رنگ سبز (Cr^{3+}) درآید که در این حال باید دور ریخته شود

۲- تهیه محلول KOH الکلی: مقدار ۱۰۰ گرم هیدروکسید پتاسیم (KOH) در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و پس از سرد کردن و رسیدن به دمای محیط، با اتانول به حجم یک لیتر برسانید.

توجه: محلول تمیز کننده شدیداً خورنده است و ترکیب خطرناکی است و باید با نهایت دقت بکاربرده شود و اگر با پوست بدن تماس پیدا کرد محل مورد نظر را با آب فراوان بشوئید.

نحوه شستشوی وسائل شیشه ای مانند بشر، ارلن مایر (بجز بورت، پی پت و بالن ژوژه):

بشر، ارلن مایر و سایر وسائل شیشه ای که جهت آزمایش از آنها استفاده می شود باید کاملاً تمیز و بدون چربی باشد. برای تمیز کردن آنها ابتدا ظروف را با مایع ظرفشویی و آب معمولی شسته و سپس با آب مقطر کر دهید و اگر آب بصورت قطرات جمع شود ظرف کثیف است و از محلول تمیز کننده استفاده نمائید. سپس ظروف را در محلی قرار دهید تا خشک شود. (می توانید برای خشک کردن ظروف شیشه ای از گرم کن یا اون استفاده نمائید.)



شستشوی پی پیت ، بورت و بالن حجم سنجی (بالن ژوژه) :

برای شستشوی بالن حجم سنجی (بالن ژوژه) ابتدا با مایع ظرفشویی و آب معمولی شستشو داده و سپس با آب مقطر کر دهید و اگر آب بصورت قطرات جمع شود ظرف کثیف است و از محلول تمیز کننده استفاده نمائید.

برای شستشوی بورت ، حدود یک لیتر از محلول را داخل مخزن بورت ریخته و بورت را از محلول پر نموده و پس از چند دقیقه خالی نمائید .

این عمل را چندین بار تکرار نموده تا کاملاً تمیز شود سپس در مخزن آب مقطر ریخته و بورت را چندین بار پر و خالی کنید و در مرحله بعد با محلولی که تیتراسیون را انجام می دهید، بورت را کر دهید.

برای شستشوی پی پت ، چندین بار با محلول تمیز کننده پر و خالی کنید و سپس با آب مقطر کر دهید.



مجموعه آموزشی کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

یادآوری: حرارت دادن بورت، پی پت و بالن حجم سنجی (بالن ژوژه)، حجم آنها را تغییرمی دهد و ایجاد خطا می کند.

بنابراین از شستشو با آب گرم یا حرارت دادن آنها خودداری نمائید.

معرف کالکون: یک گرم از معرف کالکون را با ۱۰۰ گرم کلرور سدیم مخلوط نموده و در یک هاون بسائید.

معرف اریو کرم بلک تی: یک گرم از معرف را با ۱۰۰ گرم کلرور سدیم مخلوط نموده و بسائید.

معرف مخلوط: ۰.۲ گرم برومو کروزل گرین و ۰.۲ گرم متیل رد در ۴۰۰ میلی لیتر اتانول حل نمائید.

معرف باریم دی فنیل آمین سولفانات: ۰.۳ گرم از معرف را به یک بشر ۴۰۰ میلی لیتری منتقل نموده و ۱۰۰ میلی لیتر آب

مقطر و سپس ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه نمائید و کاملاً بهم بزنید و در شیشه تیره رنگ نگهداری

کنید. می توانید بجای محلول از جامد آن نیز استفاده نمائید.

معرف متیل رد: ۲/۰ گرم متیل رد را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول حل کرده و محلول را صاف نمائید.

معرف فنل فتالین: ۵/۰ گرم فنل فتالین را در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول حل نمائید.

معرف تیمول فتالین: ۰.۴ گرم تیمول فتالین را در ۶۰۰ میلی لیتر اتانول حل نموده و سپس ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر

اضافه نموده و محلول را هم بزنید تا یکنواخت شود و اگر رسوبی در محلول وجود داشت آنرا صاف نمائید.

معرف متیل اورانژ: ۰.۵ گرم معرف را در یک لیتر آب مقطر حل نمائید.

اسید کلریدریک ۰.۱ نرمال: ۸.۲۸ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید. یا یک عدد تیترازول ۰.۱ نرمال

به حجم یک لیتر برسانید.

اسید کلریدریک ۱ نرمال: ۸۲.۸ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید یا یک عدد تیترازول ۱ نرمال

به حجم یک لیتر برسانید.

محلول آب مقطر اسیدی: ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک را با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط نمائید.



مجموعه آموزشی کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

اسید کلریدریک ۵ درصد : به ازای هر ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک، ۹۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه نمایند.

اسید کلریدریک ۱+۹۹ : به ازای هر یک میلی لیتر اسید کلریدریک، ۹۹ میلی لیتر آب مقطر اضافه نمایند.

محلول اسید نیتریک ۰.۱ نرمال : ۶.۹ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ را به حجم یک لیتر برسانید.

محلول ۰.۱ نرمال سود : ۱ گرم NaOH جامد را در آب مقطر حل نموده و در یک بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری به

حجم برسانید.

محلول ۱۰ گرم در لیتر سود : ۱۰ گرم سود جامد را در آب مقطر حل نموده و به حجم یک لیتر برسانید.

محلول ۴ نرمال KOH : مقدار ۲۵۰ گرم KOH جامد را در آب مقطر حل نموده و به حجم یک لیتر برسانید.

محلول کلرواستانو: مقدار ۵ گرم $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ را در ده میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ حل نموده و حجم را با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر برسانید. محلول راجوشانده تا رنگ آن شفاف شود، سپس مقداری قلع فلزی به آن اضافه کنید.

محلول دی کرومات پتاسیم ۰.۰۵ نرمال : یک عدد تیترازول ۰.۱ نرمال را به حجم دو لیتر برسانید یا جامد آن را بمدت

۲ ساعت دراون در حرارت ۱۲۰ خشک نموده و ۲.۴۵۱۶ گرم را در آب مقطر حل کرده و حجم را به یک لیتر برسانید.

محلول نیترات نقره (جهت شناسایی حضور کلر و برای اطمینان از شستشوی رسوبات) : ۱۷ گرم نیترات نقره را در

آب مقطر حل نموده و حجم را به یک لیتر برسانید.

محلول نیترات آمونیوم ۲۰ گرم در لیتر (NH_4NO_3) : مقدار ۲۰ گرم نیترات آمونیوم را در آب مقطر حل نموده و حجم را به یک لیتر برسانید. محلول باید در حضور معرف متیل رد با آمونیاک تا پیدایش رنگ زرد خنثی شده باشد.



محلول ۰.۰۱ نرمال : EDTA يك عدد تیترازول ۰.۱ نرمال EDTA را به حجم ده لیتر برسانید . یا ۳۷.۲۲۴ گرم از

نمک ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) خالص را که در اون در حرارت ۸۰ درجه سانتیگراد خشک شده است وزن نموده و به حجم ده لیتر برسانید.

محلول بافر : (PH=10) مقدار ۵۰ گرم کلرور آمونیوم را در آب مقطر حل نموده و ۵۵۰ میلی لیتر NH_3 غلیظ اضافه

نموده و به حجم يك لیتر برسانید.

کلرور باریم ۱۰۰ گرم در لیتر : مقدار ۱۰۰ گرم $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ را در آب مقطر حل و به حجم يك لیتر برسانید.

محلول نیترات نقره ۰.۰۵ نرمال : ۸.۴۹۳۸ گرم نیترات نقره را که قبلا در اون در حرارت ۱۰۵ درجه سانتیگراد

حداکثر بمدت يك ساعت قرار داده شده را در آب مقطر حل نموده و حجم را به يك لیتر برسانید.

همچنین می توانید يك عدد تیترازول ۰.۱ نرمال را به حجم ۲ لیتر برسانید.

محلول ۵ درصد کرومات پتاسیم : مقدار ۱۲.۵ گرم کرومات پتاسیم را در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل نمایند.

اسید فسفریک ۵۰۰ : ۱+۱ میلی لیتر اسید فسفریک غلیظ (H_3PO_4) را با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط نمایند.

محلول کلرور جیوه اشباع : يك محلول اشباع از جامد کلرور جیوه (HgCl_2) تهیه کنید.

محلول آمونیاک ۱+۱ : حجم مساوی از آب مقطر و آمونیاک غلیظ مخلوط نمایند.

محلول ۱۰۰۰ ppm Na_2O : مقدار ۱.۸۸۵۹ گرم از کلرور سدیمی که قبلا بمدت ۲ ساعت در اون و در حرارت

۱۰۵ تا ۱۱۰ درجه سانتیگراد گذاشته شده است در آب مقطر حل نمایند و حجم را به يك لیتر برسانید.

محلول ۱۰۰۰ ppm K_2O : مقدار ۱.۵۸۲۹ گرم از کلرور پتاسیمی که قبلا بمدت ۲ ساعت در اون و در حرارت

۱۰۵ تا ۱۱۰ درجه سانتیگراد گذاشته شده است را در آب مقطر حل نمایند و حجم را به يك لیتر برسانید.

مخلوط کربنات سدیم و پتاسیم : مقدار مساوی از کربنات سدیم و پتاسیم را وزن کرده و با هم مخلوط نمایند.

محلول ۰.۰۵ نرمال کلرور سدیم : مقدار ۲.۹۲۲۲ گرم از کلرور سدیمی که قبلا در اون در حرارت ۱۰۵ درجه

سانتیگراد بمدت يك ساعت خشک شده است، در آب مقطر حل نموده و به حجم يك لیتر برسانید.



محلول ۰.۰۵ نرمال کلرور پتاسیم : مقدار ۳.۷۲۷۷ گرم از کلرور پتاسیمی که قبلا در اون در حرارت ۱۰.۵ درجه

سانتیگراد بمدت يك ساعت خشك شده است، در آب مقطر حل نموده و به حجم يك لیتر برسانید.

محلول نیترات آلومینیوم $Al(NO_3)_3$: مقدار ۲۰۸.۵ گرم نیترات آلومینیوم را در آب مقطر حل نموده و به يك بالن

ژوژه يك لیتری منتقل‌نمائید و پس از رسیدن به دمای محیط به حجم برسانید.

نکات مورد توجه در استفاده

پیپت و بشر را تمیز و خشک کنید. این عمل هر گونه مایع به جا مانده از آزمایش قبل را برداشته و در نتیجه یکی از عوامل خطا در اندازه گیری حذف می‌شود.

آب مقطر را در ارلن بریزید و اجازه دهید ۱۵ دقیقه بدون حرکت و ثابت باقی بماند. بعد از این زمان، درجه حرارت آب را اندازه گیری کنید.

جرم بشر را تعیین کنید.

با استفاده از پرکننده پیپت، آب فلاسک را به درون پیپت بکشید. سپس آن را در بشر بریزید.

بشر را مجددا وزن کنید و اختلاف آن را با اندازه‌گیری قبلی مقایسه کنید. این عمل را ۳ مرتبه تکرار کنید تا از دقت عملکرد پیپت مطمئن شوید. پس از این ۳ بار، دیگر نیازی به تمیز کردن بشر نیست.

صفحه مدرج روی پیپت را در بالاترین حجم ممکن تنظیم و حجم انتخابی را وزن و ثبت کنید. این عمل را ۵ مرتبه تکرار کنید. مورد فوق را مجددا تکرار کنید با این تفاوت که این بار شاخص مدرج را روی کمترین حجم ممکن قرار دهید.

آزمایش را در فضایی تمیز و منظم انجام دهید. آزمایشگاه به هم ریخته کار را دشوار می‌کند.

در میکروپیپت‌های متغیر (قابل تنظیم برای حجم‌های مختلف)، برای کاهش حجم و تنظیم حجم مورد نظر، دکمه کنترل به آرامی تا رسیدن به حجم انتخابی، چرخانده شود. برای افزایش حجم بهتر است دکمه کنترل را تا کمی بیش از حجم مورد

نظر پیچاند و بعد در خلاف جهت با کم کردن حجم به مقدار مورد نظر رسید

برای ضد عفونی کردن، محلول ۶۰٪ ایزوپروپانل توصیه می‌شود. برخی از انواع

پیپت‌ها نیز قابل اتوکلاو هستند

کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی از اولویت‌های هر آزمایشگاه می‌باشد چرا که اندازه‌گیری مقادیر برداشتی برای کیت‌های مصرفی برای شناسایی یون‌ها مواد و پروتئین‌های بیولوژیک نیازمند ابزار حجم سنجی دقیق می‌باشد. از این رو تمامی کارکنان آزمایشگاه باید روش انجام کالیبراسیون را دانسته و به صورت دوره‌ای در بخش فنی فعالیت خود انجام داده و مستندات مربوطه را ثبت و نگهداری نماید. ابزارهای حجم سنجی عبارتند از پیپت، سمپلر، بشر، ارلن، مزور و ... می‌باشد که هر کدام نیازمند تصدیق کالیبراسیون می‌باشد.

کلیات

سمپلر برای انتقال حجم‌های کم نمونه با دقت و صحت بالا مورد استفاده قرار می‌گیرد. سمپلرها به عنوان میکروپیپت کالیبر شده‌اند.

چگونگی کاربری:

مطابق دستورالعمل مندرج در کتابچه راهنمای سمپلر انجام میشود.

نکات مهم در نحوه کار با سمپلر

اطمینان از اتصال محکم سر سمپلر

عمود نگهداشتن سمپلر در زمان مکش

تخلیه محلول با تماس نوک سمپلر و جداره ظرف با زاویه 40°

رها کردن آرام دکمه در زمان برداشت و تخلیه

کشیدن نوک سمپلر به لبه ظرف برای حذف قطرات اضافی 3-1 ثانیه تا قبل از فشار تا توقف اول

در زمان تخلیه محلول، ضمن تماس با جداره

نحوه نگهداری

نگهداری دوره‌های: شامل شستشو و کنترل کیفیت سمپلر است، شستشو سالی دو بار و قبل از انجام

مراحل کنترل کیفیت انجام می‌شود و به شکل تمیز کردن قسمت‌های داخلی است که بر اساس روش

موجود در راهنمای سمپلر انجام می‌گیرد

توجه به این نکته لازم است که پیستون پس از شستشو باید با مقدار کمی از خمیر همراه سمپلر

روغنکاری شود.

در صورت لزوم تمامی قسمت‌های خارجی را میتوان با محلول آب و صابون تمیز کرد و پس از آبکشی در

دمای اتاق خشک کرد.

برای ضدعفونی کردن سمپلر محلول 60% ایزوپروپانل توصیه میشود

ضربه به سمپلر میتواند این وسیله را از کالیبراسیون خارج نماید لذا باید تمهیدات لازم در خصوص

جلوگیری از ضربه به سمپلر به کار گرفته شود.

باز شده و در صورت مکش محلولهای اسیدی و سایر محلولهای خورنده باید بخش نگهدارنده سر سمپلر (Tip holder) ، بخوبی با آب مقطر شسته شود.

پیستون و حلقه پلاستیکی (O-ring) هرگز نباید از سمپلرهای متغیر در حجمی خارج از محدوده حجمی ادعا شده، استفاده نمود

کنترل کیفیت

در امر کنترل کیفیت سمپلر، پیش از هر اقدامی ابتدا باید با استفاده از ابزار سرویس مربوطه مانند روغن، الکل سفید و میله بازکننده انسدادهای احتمالی، نسبت به سرویس سمپلر اقدام نمود. در صورت صحت ساختمان فیزیکی سمپلر، کنترل کیفیت انجام می شود.

بررسی دقت و صحت سالی دو بار به دو روش رنگ سنجی با استفاده از رنگ سبز خوراکی و با پارانیتروفنل و یا روش توزین امکانپذیر است.

۱- کالیبراسیون سمپلر

سمپلر یکی از مهمترین ابزارهای کمکی برای برداشت مایعات بیولوژیک و غیر بیولوژیک مانند خون، سرم و ریجنت های مورد استفاده در بخش بیوشیمی می باشد .

نحوه کالیبراسیون سمپلر

کالیبراسیون سمپلر به دو روش صورت می گیرد

الف (روش رنگ سنجی) با استفاده از رنگ سبز خوراکی و پارانیتروفنل (

ب) روش حجم سنجی

روش رنگ سنجی :

الف - رنگ سبز خوراکی

برای هر گروه باید یک محلول ذخیره از رنگ سبز خوراکی تهیه نمود.

سمپلرها در کارهای متداول به دو گروه ۱۰-۱۰۰ میکرولیتر و ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر تقسیم می شود

155 میلیگرم در صد رنگ سبز در آب مقطر حل شده و برای گروه ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۱۵/۵

میلی گرم آماده می شود .

غلظت در محلولهای ذخیره به گونه ای انتخاب شده که محلول 155 میلیگرم درصد پس از رقیق

شدن به نسبت ۱/۱۰۱ و محلول ۱۵/۵ میلی گرم درصد پس از رقیق شدن به نسبت ۱/۱۱ و جذبی حدود

۰/۴ داشته باشد .

ب- محلول پارانیتروفنل

به جای رنگ سبز خوراکی میتوان از محلول پارانیتروفنل استفاده نمود.

Paranitrophenol (C₆H₅NO₃), indicator pH (5.4-7.5) MERCK Art.6798

در این روش محلول ذخیره با توجه به حجم سمپلر تهیه میشود.

سمپلرهای با حجم کمتر از ده میکرولیتر: برای تهیه محلول ذخیره، 420 میلیگرم

پارانیتروفنل در 100 میلی لیتر آب مقطر حل میشود.

کنترل دقت :



در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود .
محتویات لوله کاملا مخلوط شده سپس جذب نوری محلول درون هر لوله در طول موج 405 نانومتر
در مقابل سود ۰/۰۱ نرمال قرائت می شود .

کنترل صحت :

در بالن ژوژه 1 لیتری، 1 میلی لیتر از محلول ذخیره به 1000 میلی لیتر سود ۰/۰۱ اضافه شده و
کاملا مخلوط می شود .

سمپلر های با حجم ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر :

برای تهیه محلول ذخیره 42 میلی گرم پارانیتروفنل در 100 میلی لیتر آب مقطر حل می شود

کنترل دقت :

در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۰۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود .
محتویات لوله کاملا مخلوط شده سپس جذب نوری محلول درون هر لوله در طول موج 405 نانومتر
در مقابل سود ۰/۰۱ نرمال قرائت می گردد .

کنترل صحت :



در بالن ژوژه 100 میلیلیتری، 1 میلیلیتر از محلول ذخیره به 100 میلیلیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه شده و کاملاً مخلوط می گردد .

سمپلر های با حجم ۱۰۰-۱۰۰ میکرولیتر

برای تهیه محلول ذخیره 42 میلی گرم پارانیتروفنل در 1 لیتر آب مقطر حل می شود.

کنترل دقت

در ده لوله آزمایش بسته به نوع سمپلر رقت ۱/۱۱ از محلول ذخیره در سود ۰/۰۱ نرمال تهیه می شود .
محتویات لوله کاملاً مخلوط شده سپس جذب نوری محلول درون هر لوله در طول موج 405 نانومتر در مقابل سود ۰/۰۱ نرمال قرائت می گردد .

کنترل صحت :

در بالن ژوژه 100 میلیلیتری، ده میلی لیتر از محلول ذخیره به 100 میلیلیتر سود ۰/۰۱ نرمال اضافه شده و کاملاً مخلوط می شود .

جذب نوری این محلولها پس از اعمال ضریب رقت در طول موج 405 نانومتر حدود ۰/۵۵ خواهد بود فتومتر با آب مقطر یا سود صفر می شود .

کنترل صحت :

جهت کنترل صحت عملکرد سمپلر باید رقتی مشابه رقت محلول رنگی سمپلر را با استفاده از پیپت و بالن ژوژه کلاس A تهیه نمود .

جذب حداقل سه خوانده از محلول تهیه شده در بالن روژه را با میانگین جذب بدست آمده در ارزیابی دقت سمپلر مقایسه و طبق فرمول عدم صحت میزان خطا بر حسب درصد محاسبه میشود.

کنترل دقت :

ده لوله چیده می شود و محلول ذخیره رنگی متناسب با حجم سمپلر مورد نظر برای کنترل انتخاب میگردد .

با سمپلر مورد نظر از محلول ذخیره رنگی کشیده شده و به لوله ها ریخته می شود و پس از مخلوط کردن جذب نوری لوله ها در مقابل آب مقطر قرائت میگردد

اختلاف در جذب نوری لوله ها به اختلاف در حجم محلول برداشت شده توسط سمپلر نسبت داده می شود و با محاسبه ضریب انحراف میزان عدم دقت یا تکرارپذیری تعیین میگردد.

2-روش توزین

میزان عدم دقت و عدم صحت براساس روش توزین به شرح زیر صورت می پذیرد. یک ویال توزین شده با وزن کاملاً مشخص بر روی ترازو قرار داده شده و سمپلر 20 بار پیپتی با آبی که دمای آن



مشخص باشد پر شده و در درون ویال تخلیه می‌گردد. وزن هر مکش دقیقاً ثبت می‌شود.

با استفاده از فرمول انحراف معیار، عدم دقت محاسبه می‌شود (CV). برای محاسبه عدم صحت،

میانگین وزن فوق (بعد از تصحیح با عامل دما و فشار) از وزن ادعا شده کم شده و به صورت زیر

معین می‌شود .

میزان عدم صحت (%) = وزن ادعا شده - میانگین وزن بدست آمده / وزن ادعا شده $\times 100$

تفسیر: در کارهای متداول مقدار عدم دقت قابل قبول (ضریب انحراف) حداکثر دو درصد و مقدار عدم

صحت قابل قبول حداکثر سه درصد است.

کالیبراسیون

در صورت مشاهده خطای دقت یا صحت، سمپلر جهت کالیبراسیون به شرکت پشتیبان ارسال شده و یا

به روش فوق اقدام به کالیبراسیون می‌کنیم .

ایمنی :

نباید مایع وارد قسمتهای داخلی سمپلر گردد، همیشه از نوک سمپلر مناسب با حجم برداشتی استفاده

شود .

تماس دست با نوک سمپلر آلوده ممنوع است .

هرگز نباید سمپلر حاوی محلول از پهلو به زمین گذاشته شود.

جدول کنترل کیفی سمپلر به روش رنگ سنجی															
آزمایشگاه.....															
کنترل دقت															
سال.....ماه.....															
حجم سمپلر	رقت محلول	جذب های خوانده شده										میانگن جذب	CV %	میانگین جذب صحت	Bias صحت
۱۰لاندا															
۲۰لاندا															
۲۵لاندا															
۵۰لاندا															
۱۰۰لاندا															
۲۰۰لاندا															
۵۰۰لاندا															
۱۰۰۰لاندا															
کنترل صحت															

کالیبراسیون ترازوی دیجیتال آزمایشگاه :

ترازو آزمایشگاهی دارای محفظه ی توزین است که مواد ارزشمند گرمی در محفظه ، توزین می گردد این امر برای جلوگیری از تاثیر هوا بر وزن مواد می باشد که استاندارد ترین روش برای محاسبه دقیق وزن مواد گرمی است .

در ترکیبات شیمیایی و ساخت دارو خطا حتی به کمترین مقدار منجر به فاجعه می گردد و نیاز به ترازو آزمایشگاهی با دقت بالا وجود دارد ترازو دیجیتالی با دقت بالا معادل $0/0001$ گرم و $0/00001$ گرم دقیق ترین ترازو دیجیتال آزمایشگاهی بوده که در این صنعت می توان به کار برد زیرا میزان خطا در این دستگاه ها کاملا از بین رفته است .

در آزمایشگاه به دلیل حساسیت بالا در توزین دقت ترازو باید بسیار واقعی بوده و در تمام مدت توزین رعایت گردد ، گاهی نیز در آزمایشگاه ها نیاز به ترازو دیجیتالی ایجاد می گردد که بتواند رطوبت موجود در مواد را مقایسه و سنجش نماید ، استفاده از ترازو آزمایشگاهی در مدل رطوبت سنج و مقایسه کننده نیاز به علم استفاده از ترازو را همراه دارد و هر کاربری به راحتی نمی تواند از دستگاه استفاده نماید ، این گروه ترازو دیجیتالی دارای تنوع بالایی بوده و به صورت کاملا تخصصی تولید می گردد و هر کارخانه ای که به تولید ترازو مشغول است توان تولید ترازو آزمایشگاهی را ندارد و برای تولید و ساخت این دستگاه نیاز به شرایط خاص است به همین دلیل در خرید ترازو حتما دقت لازم رعایت گردد .

جدید ترین ترازوی آزمایشگاهی با امکان کالیبره ی کاملا دیجیتال خطا های آزمایشگاهی را به صورت کامل از بین برده است ، ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی ذکر شده در صورت خارج شدن ترازو از حالت کالیبره به صورت کاملا اتوماتیک با سنگ کالیبره ی داخلی به حالت کالیبره و استاندارد ترازوی دیجیتال باز می گردد .

مواد ترکیبی را به صورت دقیق توزین شده و محاسبه ی دقیقی داشته باشد .

هنگام استفاده از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی به چند نکاتی باید توجه کرد :

- پیش از شروع اندازه گیری، ترازو حداقل نیمساعت روشن باشد.
- میز محل استقرار ترازو به اندازه کافی سنگین و محکم باشد تا از انتقال لرزش به ترازو جلوگیری کند.
- پیش از استفاده از ترازو از تراز بودن آن اطمینان حاصل کنید.
- پیش از استفاده از ترازو آنرا (بخصوص صفحه بارگیری) تمیز کنید و هنگام استفاده از آلوده و کثیف شدن ترازو جلوگیری نمایید.
- به کمک وزنه کالیبره شده در دوره های مشخص بین دو کالیبراسیون ترازو را بازرسی نمایید.
- ترازو را جابجا نکنید، اینکار ممکن است باعث تغییر مشخصه های اندازه شناختی ترازو گردد.
- شرایط محیطی برای استفاده از ترازو را مطابق اعلام سازنده مهیا و کنترل نمایید.
- به کمینه و بیشینه میزان توزین توجه کنید، در صورتی که جرم اندازه گیری شده زیر مقدار حداقل توزین باشد مقدار اندازه گیری شده دارای درستی خوبی نخواهد بود و جرم بالاتر از حد مجاز باعث خراب شدن حسگر تشخیص وزن خواهد شد.
- توزین ترجیحاً در وسط کفه انجام شود، زیرا در اثر دور شدن جرم از وسط کفه خطای بار گذاری غیر متمرکز، در اندازه گیری ها وارد می گردد.

کالیبراسیون پیپت های مورد استفاده در آزمایشگاه :

کالیبراسیون پیپت، بخش اساسی از کارهای آزمایشگاهی است که باید به عنوان قسمتی حیاتی در جایی که نیاز به انتقال یا رقیق سازی حجم مشخصی از مایعات است، در نظر گرفته شود. پیپت‌ها، ابزارهایی آزمایشگاهی هستند که در طرح‌ها و اندازه‌های مختلف تولید می‌شوند. تعداد زیادی دفترچه راهنما توسط شرکت‌های سازنده ارائه شده که هر یک دستورالعمل استفاده و نحوه کالیبراسیون وسیله را بیان می‌کنند. پیپت، فضای خلأیی را برای کشیدن مایع ایجاد می‌کند و ابزار متداولی است که در آزمایشگاه‌ها و موسسات مراقبت بهداشتی استفاده می‌شود. از آنجا که پیپت برای اندازه‌گیری و انتقال مواد، حیاتی است، کالیبراسیون آن هر چند ماه یک بار ضروری است. بسیاری از پیپت‌های مورد استفاده در آزمایشگاه، پیپت جابه‌جایی هوا هستند که از طریق اندازه‌گیری و انتقال محلول کار می‌کنند. مکانیسم استفاده شده، یک پیستون است که توسط انگشت شست کاربر فعال می‌شود. نوک پیپت در محلول مورد نظر قرار گرفته و حجم مشخصی از آن را در برمی‌گیرد.

صحت و دقت

قبل از بحث در مورد کالیبراسیون، باید به این نکته توجه کرد که دانستن صحت و دقت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دقت یک اندازه‌گیری، تعداد انتخاب‌های قابل تشخیص را بیان می‌کند که از بین آن‌ها یک نتیجه معین انتخاب می‌شود. برای مثال یک دستگاه اندازه‌گیری که عدد ۲/۴۳۴ ولت را نشان می‌دهد، دقیق‌تر از دستگاهی است که عدد ۷ 43/2 را نشان می‌دهد. صحت یک کمیت اندازه‌گیری شده منفرد، اختلاف بین مقدار واقعی و مقدار اندازه‌گیری شده، تقسیم بر مقدار واقعی است. این نسبت معمولاً به صورت درصد بیان می‌شود. چون مقدار واقعی به ندرت در دسترس است، مقدار واقعی پذیرفته شده یا مقدار مرجع باید مطابق با انستیتوی ملی استانداردها و تکنولوژی باشد.

ارزیابی دقت و صحت

اولین معیار مقایسه برای کنترل کیفیت سمپلرها، میزان ادعا شده توسط سازندگان سمپلر برای Inaccuracy (Bias) و Imprecision (CV%) است. چرا که به دنبال ارتقای فناوری ابزار آزمایشگاهی و بهبود کیفیت عملکرد ابزار، مقادیر عدم صحت و عدم دقت ادعائی سازندگان میکرو پیپت‌ها نیز بسیار کاهش یافته است. حداکثر میزان قابل قبول عدم دقت $CV\% = 2\%$ و حداکثر میزان قابل قبول عدم صحت $Bias\% = 3\%$ پیشنهاد می‌شود. در برخی از انواع سمپلرها که حجم ثابتی را برداشت می‌کنند (سمپلرهای Fixed Volume) در صورت وجود Bias غیرقابل قبول، می‌توان با استفاده از اطلاعات مندرج در راهنمای سمپلر، حجم برداشتی را تصحیح کرد.

حفظ صحت و دقت

برای حفظ صحت و دقت، پیپت باید در فواصل دوره‌ای کالیبره شود. این دوره به عوامل متعددی بستگی دارد. از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

مهارت و آموزش اپراتورها و مراقبت‌های لازم در زمانی که پیپت مورد استفاده قرار می‌گیرد. نوع مایع مکش شده توسط پیپت نیز مهم است. بخارات ناشی از محلول‌های اسیدی و سایر مواد با خاصیت خوردندگی، ممکن است در تماس با پیستون، اتصالات و حلقه پلاستیکی قرار گرفته و صدماتی را ایجاد کنند. بنابراین باید بخش نگه‌دارنده، پیستون و حلقه به خوبی با آب مقطر شسته شوند.

صحت و دقت بالا از موارد ضروری در هر پیپت است. مخصوصاً در کاربردهایی که نیاز به دقت فوق‌العاده‌ای دارند، کالیبراسیون دستگاه باید بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد.

فاصله زمانی مشخصی برای کالیبراسیون وجود ندارد اما هر شرکتی موظف است تا روال کالیبراسیون و نکات مربوط به دستگاه خود را شرح دهد.

تحت شرایط نرمال، بهتر است که پیپت‌ها هر شش ماه یک بار کالیبره شوند تا عملکرد رضایت‌بخشی را به ارمغان آورند. برخی کاربردهای ضروری به کالیبراسیون ماهانه نیاز دارند. حتی در بعضی آزمایشگاه‌های تخصصی بررسی روزانه پیپت نیز صورت می‌گیرد.

حجم اسمی

بزرگ‌ترین حجم قابل انتخاب برای کاربر است که توسط سازنده تعیین می‌شود. برای حفظ صحت و دقت، پیپت باید در فواصل دوره‌ای کالیبره شود.

عوامل موثر بر عملکرد میکروپیپت

- ۱- اپراتور باید برای استفاده درست از پیپت آموزش دیده باشد و گاهی چند عملکرد آن را با استانداردهای تعیین شده مقایسه کند تا از صحت کار خود مطمئن شود.
- ۲- بیشتر کاربران باید آگاه باشند که درجه حرارت و رطوبت نسبی می‌تواند عملکرد پیپت را تحت تاثیر قرار دهد.
- ۳- در پیپت‌های اولیه، انتقال گرما از دست‌های اپراتور سبب تغییرات کوچکی در حجم پیپت می‌شود. گرما از طریق ابزار مورد استفاده، جذب و به درون آن منتقل می‌شود. پیپت‌های جدیدتر فضاهای هوایی دارند در نتیجه کمتر رسانای دما هستند. استفاده از آن‌ها بهترین تکنیک برای افزایش دقت است.
- ۴- یکی از علل شایع بی‌دقتی و اشتباه، خستگی اپراتور است. حتی بهترین اپراتورهای آموزش دیده نیز ممکن است در کار خود با کاهش صحت و دقت مواجه شوند.
- ۵- طراحی بسیاری از پیپت‌ها به گونه‌ای است که نیروی مورد نیاز وارد شده توسط انگشت شست کاربر را کاهش می‌دهند و علاوه بر این جهت کاربردهای طولانی مدت وزن کمتری نیز دارند که خستگی دست و در نتیجه میزان خطا را کاهش می‌دهد.
- ۶- در هر دستگاه یا ابزار مکانیکی، مولفه‌های متعددی از جمله اصطکاک، سائیدگی، شکستگی و از دست دادن مقاومت، در حرکت تاثیرگذار هستند. در پیپت که هدف، ایجاد یک خلاء دقیق با استفاده از پیستون، انتقالات مکانیکی و سایر اتصالات لاستیکی یا پلیمری است نیز تمامی موارد فوق می‌توانند عملکرد ابزار ما را تحت تاثیر قرار دهند. علاوه بر این اثرات خوردگی مایع یا محلول مورد استفاده نیز می‌تواند به اجزای خارجی صدمه وارد کند یا سبب مشکلاتی در تنظیم حجم مورد نیاز کاربر شود

نوک پیپت

نگه دارنده نوک‌ها را با دستمال تمیز کنید. نوک پیپت را به طور صحیح در نگه دارنده قرار دهید به گونه‌ای که ثابت بماند. نوک را ۳ مرتبه در همان محلولی که در آزمایش استفاده شده، بشویید. این عمل توسط نگه داشتن نوک پیپت در مایع، کشیدن و سپس رها کردن پیستون صورت می‌گیرد. جهت به دست آوردن نتایج دقیق‌تر، از شست و شو و استفاده مجدد از آن‌ها خودداری کنید. اگر در سطح خارجی نوک، قطراتی از مایع وجود دارد، آن را با دستمال بدون پرز پاک کنید و در صورتی که مایع درون آن خشک شده یا قابل تمیز کردن نیست، از یک نوک جدید استفاده کنید.

کالیبراسیون

اطمینان از کالیبراسیون صحیح میکرو پیپت‌ها که از طریق بررسی دقت و صحت عملکرد میکرو پیپت در برداشت حجم مورد انتظار حاصل می‌شود، نقش مهمی در برنامه‌های تضمین کیفیت ایفا می‌کند. اگرچه این ارزیابی به دو روش توزین و رنگ سنجی قابل انجام است، ولی تحت شرایط موجود و به علت عدم دسترسی اغلب آزمایشگاه‌ها به الزامات استفاده از روش توزین، مانند ترازوهای با رزولوشن مناسب برای کنترل سمپلر و کالیبراسیون منظم ترازو، استفاده از روش رنگ‌سنجی، توصیه می‌شود. رنگ سنجی به عنوان روشی مقرون به صرفه شناخته می‌شود که اکثر آزمایشگاه‌های معتبر آن را به کار می‌برند.

در این روش با استفاده از یک محلول رنگی با جذب پایدار، مثل رنگ سبز خوراکی در طول موج ۶۳۰-۶۲۰ نانومتر یا پارانیتروفنل در طول موج های ۴۰۱ یا ۴۰۵ نانومتر، صحت عملکرد سمپلر و نیز قابلیت تکرار آن کنترل می‌شود. از آنجا که اغلب فتومترها بهترین عملکرد خود را در محدوده جذبی ۰/۴ نشان می‌دهند محلول‌های ذخیره رنگی با غلظتی تهیه می‌شوند که پس از مرحله رقیق شدن دارای جذبی در حدود ۰/۴ باشند

کالیبراسیون پیپت در خانه

بسیاری از موسسات، پیپت‌ها را خودشان کالیبره می‌کنند. این امر مستلزم تجهیزاتی با صحت بالا است و باید در شرایط کنترل شده صورت گیرد. برای این هدف، نرم افزارهایی طراحی شده‌اند که به‌طور ایده‌آل شامل گزینه‌های انتخابی در رابطه با مانیتورینگ، محتوای پیپت و

آموزش اپراتور هستند. بیشتر تولیدکننده‌ها ابزارهایی را برای کالیبراسیون ارائه می‌دهند. بنابراین ممکن است پیپت به کمک قطعات یدکی، توسط نماینده شرکت یا فردی با تجربه تعمیر شود. دفترچه‌های راهنما نیز کمک شایانی به کاربر می‌کنند. با این حال پیپت‌های الکترونیکی به دلیل پیچیدگی خود، جهت رفع برخی اشکالات احتمالی نیاز به نماینده شرکت سازنده دارند.

نرم افزار کالیبراسیون

این نرم افزار، عضو مهمی در هر آزمایشگاه کالیبراسیون است. بسیاری از آزمایشگاه‌ها با خرید این نرم افزار و نوشتن برنامه‌های مورد نیاز در اکسل، کالیبراسیون پیپت را به عهده می‌گیرند. خرید نرم افزار مناسب امری پیچیده بوده و استفاده از آن نیازمند گذراندن دوره آموزشی مربوطه است. قبل از خرید، سیستم عامل کامپیوتر خود را بررسی کنید تا از اجرای نرم افزار بر روی آن مطمئن شوید. علاوه بر این از فروشنده، ضمانت نامه نیز بخواهید.

نکات مورد توجه در استفاده

پیپت و بشر را تمیز و خشک کنید. این عمل هر گونه مایع به جا مانده از آزمایش قبل را برداشته و در نتیجه یکی از عوامل خطا در اندازه گیری حذف می‌شود.

آب مقطر را در ارلن بریزید و اجازه دهید ۱۵ دقیقه بدون حرکت و ثابت باقی بماند. بعد از این زمان، درجه حرارت آب را اندازه گیری کنید.

جرم بشر را تعیین کنید.

با استفاده از پرکننده پیپت، آب فلاسک را به درون پیپت بکشید. سپس آن را در بشر بریزید.

بشر را مجدداً وزن کنید و اختلاف آن را با اندازه‌گیری قبلی مقایسه کنید. این عمل را ۳ مرتبه تکرار کنید تا از دقت عملکرد پیپت مطمئن شوید. پس از این ۳ بار، دیگر نیازی به تمیز کردن بشر نیست.

صفحه مدرج روی پیپت را در بالاترین حجم ممکن تنظیم و حجم انتخابی را وزن و ثبت کنید. این عمل را ۵ مرتبه تکرار کنید.

مورد فوق را مجدداً تکرار کنید با این تفاوت که این بار شاخص مدرج را روی کمترین حجم ممکن قرار دهید.

آزمایش را در فضایی تمیز و منظم انجام دهید. آزمایشگاه به هم ریخته کار را دشوار می کند. در میکروپیپت های متغیر (قابل تنظیم برای حجم های مختلف)، برای کاهش حجم و تنظیم حجم مورد نظر، دکمه کنترل به آرامی تا رسیدن به حجم انتخابی، چرخانده شود. برای افزایش حجم بهتر است دکمه کنترل را تا کمی بیش از حجم مورد نظر پیچاند و بعد در خلاف جهت با کم کردن حجم به مقدار مورد نظر رسید برای ضد عفونی کردن، محلول ۶۰٪ ایزوپروپانل توصیه می شود. برخی از انواع پیپت ها نیز قابل اتوکلاو هستند.

کالیبراسیون سایر شیشه آلات آزمایشگاهی :

این روش قابل اجرا برای ظروف حجمی با ظرفیت اسمی 1/0 ml تا 10000 ml کاربرد دارد. پیپت های ژوزه، پیپت های مدرج، بورت ها، بالن های ژوزه و استوانه های مدرج را می توان از این طریق کالیبره کرد. این متد برای تست لوازم حجمی با ظرفیت زیر 1/0 ml از قبیل micro-glassware کاربرد ندارد.

مواد و تجهیزات لازم :

- ۱- شیشه آلات حجمی ذکر شده در قسمت فوق
- ۲- ترازوی حساس با دقت 1/0 ml
- ۳- ترمومتر با دقت $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$
- ۴- فشارسنج با خطای اندازه گیری حداکثر 1 kpa
- ۵- رطوبت سنج
- ۶- آب مقطر به میزان حداقل 500 ml با کیفیت حداقل ۳
- ۷- ارلن مایر (جهت دریافت مایع برای کالیبراسیون پیپت و بورت)
- ۸- گیره و پایه (برای کالیبراسیون پیپت و بورت)
- ۹- پارچه بدون پرز یا (کاغذ صافی معمولی)
- ۱۰- میکروپیپت
- ۱۱- کرنومتر



ظروف شیشه ای پیش از استفاده باید کاملا تمیز و خشک باشد. در صورت آلودگی ظروف باید آنها را با محلول قلیایی پرمنگنات پتاسیم شامل مخلوطی برابر سدیم هیدروکسید ۱ M و 30 g/l پتاسیم پرمنگنات به مدت یک ساعت تمیز کرده و MnO₂ باقی مانده را با اگزالیک اسید رقیق یا هیدروکلریک اسید رقیق پاک کرد.

زمان انتظار و زمان تحویل مایع (آب) درون ظرف شیشه ای را باید در نظر گرفت و سریعتر از زمان درج شده روی ظرف نباید مایع (آب) را خالی کرد .

دما و شرایط محیطی که کالیبراسیون در آن انجام می گیرد باید دقیقا لحاظ شود. رطوبت نسبی محیطی باید بین ۸۵٪ تا ۳۵٪ باشد. دمای محیط باید بین ۱۵C° تا ۳۰C° با خطای $\pm 5/0C^{\circ}$ باشد.

لوازم باید یک تا دو ساعت باید در شرایط محیطی که می خواهیم آنها را کالیبره کنیم جهت رسیدن به تعادل دمایی باقی بمانند.

ظروف شیشه ای بوروسیلیکات نباید در معرض موادی چون فسفریک اسید داغ، قلیا های داغ و قوی و هیدروفلوریک اسید قرار گیرند. همچنین نباید در دمایی بیش از ۱۵۰C° خشک شوند.

کلاس بندی ظروف شیشه ای حجمی در آزمایشگاه

ظروف حجمی آزمایشگاه به طور کلی به دو کلاس اصلی تقسیم بندی می شوند که شامل کلاس A و B است. ظروف کلاس A دارای صحت بیشتر و تولرانس کمتر هستند در مقابل ظروف کلاس B دارای صحت کمتر و تولرانس بیشتری می باشند لوازم شیشه ای کلاس A دارای گواهی تایید به (certificate) از شرکت سازنده می باشند که معمولا ارجاع به استاندارد های معتبر ASTM یا Din یا ISO دارد.

IN یا EX

براساس نوع ساخت و طراحی، ظروف شیشه ای آزمایشگاه به دو گروه TC to contain و TD to deliver تقسیم بندی می شوند. ظروفی که به عنوان TC تقسیم بندی می شوند هنگامی که تا خط کالیبره پر شوند دقیقا شامل مقدار مشخصی از مایع هستند.

ظرفی که بر روی آنها عبارت TD حک شده هنگامی که با روش صحیح مایع درون آنها خالی شود مقدار مایع انتقال داده شده مقدار اسمی آنها (با در نظر گرفتن تولرانس) خواهد بود. به عنوان مثال بالن ژوژه 500 ml که بر روی آن عبارت TC حک

شده است اگر تا خط نشانه پرشود دارای مقدار 500 ml (با در نظر گرفتن تولرانس) مایع است. اگر این ظرف را خالی کنیم حجمی که انتقال می دهد کمی کمتر از 500 ml خواهد بود. در صورتی که اگر بالن ژوژه TD ml 500 داشته باشیم حجمی که انتقال می دهد مقدار 500 ml خواهد بود. بر مبنای استاندارد بین المللی به جای عبارت TC از IN و به جای عبارت TD از EX استفاده می شود.

محدوده خطا

در یک وسیله حجمی که دارای تعدادی خطوط مدرج است، محدوده خطا می تواند در هر کدام از خطوط رخ دهد به طور مثال در یک مزور 10 ml که دارای محدوده خطا ± 100 ml است حجم 10 ml می تواند محدوده ای بین 0/9 ml تا 1 ml داشته باشد.

زمان تحویل (delivery time)

حداقل زمانی که باید برای خالی کردن یک ظرف شیشه ای حجمی از مایع در نظر گرفت را زمان تحویل می گویند که به دلیل وجود کشش سطحی بین آب و مولکولهای سطح شیشه است این عدد بر حسب ثانیه بر روی لوازم حجمی درج شده است

حجم اسمی

حجم کاری یک ظرف شیشه ای حجمی یا مقدار حجمی که توسط کارخانه بر روی آن درج شده است مثلا یک بورت ml 50 یا یک بالن ژوژه 100 ml به ترتیب دارای حجم های اسمی 50 ml و 100 ml هستند.

روش کار:

بورت (کالیبره شده بر حسب حجمی که تحویل می دهد (EX))

* دمای آبی که در محیط کالیبراسیون به تعادل دمایی رسیده را توسط ترمومتر ثبت می کنیم. دما را در محاسبات نهایی وارد کنیم.

* ظرف توزین مناسبی جهت وزن مقدار آب درون بورت انتخاب می کنیم. بهتر است از این مورد از ارلن مایر استفاده شود اگر در فضایی با رطوبت خیلی کم کار می کند جهت جلوگیری از تبخیر سطحی آب بهتر است سطح داخلی ارلن مایر پس از استفاده کمی مرطوب باشد (با استفاده از یک پنبه خیس سطح داخلی آنرا نم دار کنید) سپس بلافاصله باید ارلن مایر را

توزین کرده و عدد به دست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید. ۱ W (با یک صفحه پلاستیکی باید در ارلن مایر را پوشاند)

* بورت مورد نظر را به طور عمودی به پایه وصل کنید

* بورت را تا 5 mm بالای صفر آن از آب پر می کنیم. پس بشر آن را باز می کنیم تا آب تا حجم اسمی خالی شود.

* پس از پر کردن اولیه ممکن است حبابهای هوای کوچکی در قسمت انتهایی بورت باقی بمانند که باید با زاویه دار کردن بورت و ضربات نوک انگشت آنها را خارج کرد.

* مجدداً بورت را 5 mm بالاتر از صفر آن پر می کنیم. دقت شود در این مرحله باید به آرامی و با بازکردن شیر بورت مقعر آب را بر روی سطح بالایی سطح صفر تنظیم کرد. در این حالت بالاتر از صفر بورت نباید آغشته به مایع باشد در این صورت باید توسط یک کاغذ صافی بریده شده به ابعاد مناسب، سطح داخلی بورت را خشک کرد.

* در بورت‌هایی که نوار shcellbach بر روی آنها رسم شده نقطه صفر بورت باید در محل تلاقی دو نوک پیکان از قسمتهای بالا و پایین باشد.

* در این مرحله آب درون بورت را تا 5 mm بالاتر از حجم اسمی درون ظرف توزین (ارلن مایر) خالی می کنیم بشر بورتها باید کاملاً باز بوده و نوک بورت هیچ گونه تماسی را با ظرف توزین نداشته باشد.

* بعد از گذشت ۳۰ ثانیه (delivery time) تقعر مایع را دقیقاً بر روی مقدار حجم اسمی بورت قرار می دهیم. در این مرحله باید شیر بورت را به آرامی تنظیم کرد تا مایع قطره قطره خارج شود قطرات انتهایی نوک بورت را با تماس ظرف توزین با نوک بورت از آن خارج می کنیم. (این مرحله بهتر است به دلیل جلوگیری از تبخیر سطحی سریع انجام شود یا حتی درب ارلن مایر را باید مسدود کرد).

* وزن ظرف توزین به همراه مایع درون آنرا ثبت می کنیم. ۲ W (عدد بدست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید).

تذکرات:

بهتر است پرکردن بورت را توسط یک پبیت با لوله جانبی بلند انجام دهیم. به دلیل جلوگیری از خطا نباید وزن مایع توزین را با صفر کردن ترازو محاسبه کرد بلکه اختلاف مقدار وزن خالی ظرف توزین و ظرف توزین به همراه مایع، وزن مایع خواهد بود.
سرعت عمل و تکرار نتایج جهت بدست آوردن مقدار مطلوب می تواند موثر باشد.

پیپت های ژوزه و مدرج (EX)

- * دمای آب را با ترمومتر اندازه گیری می کنیم . دمای را در محاسبات نهایی وارد کنید.
- * وزن ظرف توزین (ارلن مایر) کوچک را ثبت می کنیم. (W1 عدد بدست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید).
- * پیپت را به طور عمودی به گیره آزمایشگاهی متصل می کنیم.
- * توسط پیوار ، پیپت را 5 mm بالاتر از خط مدرج بالای آن (ظرف اسمی) از مایع پر می کنیم.
- * سطح خارجی نوکی پیپت را توسط کاغذ صافی کاملا خشک می کنیم.
- * توسط خارج کردن مایع به آرامی تقعر را بر روی بالاترین خط مدرج پیپت برقرار می کنیم. در این مرحله هم قطرات چسبیده به نوک پیپت را با کاغذ صافی پاک می کنیم.
- * در حالی که نوک پیپت به سطح داخلی ظرف توزین اتصال دارد را به آرامی خارج می کنیم. وقتی مایع به منطقه وقفه (ثابت) نوک پیپت رسید باید چند ثانیه فرصت داده **delivery time** و نوک پیپت را کاملا توسط سطح داخلی ظرف توزین از قطرات مایع پاک کنیم. (این مرحله را باید در حالتی انجام داد که مواد به انتهای پیپت متصل نباشد و خالی شدن مایع درون پیپت کاملا با جاذبه زمین صورت گیرد).
- * وزن ظرف توزین را در مرحله دوم ثبت می کنیم. W ۲ (عدد بدست آمده را در محاسبات نهایی وارد کنید).

بالن ژوزه EX

- * دمای آب را توسط ترمومتر ثبت می کنیم. (دما را در محاسبات نهایی وارد کنید).
- * بالن ژوزه های EX پیش از آنکه وزن اولیه از آنها گرفته شود نباید خشک باشند به این منظور ابتدا چند قطره آب مقطر را طوری درون بالن ژوزه می ریزیم که قسمت بالایی خط مدرج آن خیس نشود سپس با تکان دادن تمام سطوح داخلی بالن ژوزه را مرطوب می کنیم. می توان این کار را به طریق دیگر نیز انجام داد یعنی ابتدا بالن ژوزه را توسط آب مقطر تا خط نشانه پر کرده و سپس کاملا خالی می کنیم برای اطمینان از خالی شدن بالن ژوزه آنرا چند بار تکان می دهیم تا همه آب خارج شود در این قسمت بایک قطعه کاغذ صافی سطح داخلی بالن ژوزه را از نوک آن تا خط نشانه کاملا خشک می کنیم در حالی که زیر خط نشانه تا کف بالن ژوزه مرطوب باقی خواهد ماند.
- * بالن ژوزه مرحله بالا را به سرعت توزین می کنیم. W1
- * جهت جلوگیری از تبخیر رطوبت داخل بالن ژوزه پس از توزین به سرعت در آن را توسط یک ورقه مسطح پلاستیکی مسدود می کنیم.
- * حدود 5 mm بالاتر از خط نشانه بالن ژوزه را از آب مقطر پر می کنیم. (توسط پیپت آب مقطر)

- * با استفاده از یک سمپلر مقدار اضافی آب مقطر را آنقدر خالی می کنیم تا تقعر مایع بر روی خط نشانه برقرار شود (قسمت های خیس بالاتر از خط نشانه را با استفاده از برش های مناسبی از کاغذ صافی خشک می کنیم).
- * وزن بالن ژوژه به همراه آب مقطر درون آنرا ثبت می کنیم. W2

بالن ژوژه IN

تمامی مراحل بالا برای بالن های ژوژه IN قابل انجام است فقط باید در نظر داشت که بر خلاف بالن ژوژه های EX باید بالن ژوژه های IN کاملا خشک باشند لذا مرطوب کردن آنها نباید انجام شود و وزن w1 آنها را مستقیما و بر مبنای ظرف خشک محاسبه می کنیم.

استوانه مدرج

بر اساس نوع استوانه مدرج IN یا EX باید طبق دستورالعمل های بالا کالیبراسیون آنها استفاده کرد.

برقراری تقعر صحیح آب مقطر با خط نشانه

تقعر صحیح جهت قرائت هنگامی برقرار می شود که پایین ترین نقطه تقعر آب مقطر مماس بر سطح بالایی خط حجمی باشد. در این حالت خط دید باید منطبق بر سطح بالایی خط بالایی خط حجمی باشد به جهت بهتر دیده شدن تقعر آب مقطر بهتر است یک تکه کاغذ تیره آبی یا مشکی دقیقا در راستای دید و در پشت ظرف گرفته شود. در این حالت تقعر آب مقطر به رنگ کاغذ تیره در خواهد آمد و کاملا مشخص می شود.

عملیات توزین

در عملیات کالیبراسیون ظروف حجمی ۲ بار توزین وجود دارد E I یا w1 وزن ظرف توزین خالی است و IL یا w2 وزن ظرف توزین پر شده توسط آب مقطر است IL و E I باید در شرایط یکسانی توزین شوند لذا صفر کردن ترازو جهت بدست آوردن وزن آب مقطر خالص درون ظرف توزین لازم نیست.

ارزیابی و محاسبات

تعداد دفعات لازم برای تست بستگی به مهارت کاربر دارد. به طور کلی برای ظروف حجمی IN یک بار و برای ظروف EX میانگین ۳ بار اندازه گیری کفایت می کند بر اساس استاندارد های موجود، حجم وسایل شیشه ای حجمی در ۲۰°C و بر اساس روش وزنی از رابطه زیر محاسبه می شود



مجموعه آموزشی کنترل کیفی و کالیبراسیون ابزارهای حجم سنجی

که در این فرمول : V20 : حجم ظرف شیشه ای در دمای 20°C است.

W1 : وزن ظرف توزین خالی

W2 : وزن ظرف توزین به همراه آب مقطر درون آن

PW : دانسیته آب مقطر در دمای t (قابل محاسبه در جداول ارائه شده)

PA : دانسیته هوا بر حسب mg/ml در دما و فشار اتمسفری تست (قابل محاسبه در جداول ارائه شده)

PB : دانسیته وزنه کالیبراسیون مورد استفاده برای کالیبره کردن ترازو که معمولا 8 g/ml است.

γ : ضریب انبساط حجمی ظرف مورد سنجش بر حسب $^{\circ}\text{C}^{-1}$ - که وابسته به جنس ظرف می باشد.

مقدار ضریب برای شیشه های بوروسلیکات $3/3$ برابر 10^{-6}C^{-1} برای شیشه های بوروسلیکات 5 برابر 10^{-6}C^{-1}

$15 \times$ و برای شیشه های Soda-Lime برابر 10^{-6}C^{-1} می باشد.

t : دمای آب مقطر استفاده شده برای کالیبراسیون

به جهت سهولت در محاسبات معمولا از فرمول زیر به شکل خلاصه و با ضریبی به نام فاکتور Z استفاده می شود.

مقدار فاکتور Z را به سهولت می توان از جداول ارائه شده در دمای آب مقطر و فشار هوای مورد تست استخراج کرد.

تذکر: اصولا روش های کالیبراسیون جهت مشخص کردن میزان خطایی است که ابزاراندازه گیری از خود نشان می دهد لذا

باید در گزارش این میزان خطا حتما ذکر شود . میزان خطای یک ظرف حجمی برابر با اختلاف مقدار حجم اسمی ظرف با

مقدار محاسبه شده از طریق فرمول V20 خواهد بود این مقدار خطا با علامت مثبت یا منفی نشان داده خواهد شد. به عنوان

مثال اگر در یک بالن ژوژه $01/0\text{ ml}$ بیشتر (حجم اسمی) خود ظرفیت دارد لذا میزان خطای ما $01/0\text{ ml}+$ خواهد بود.

تذکر: کالیبراسیون لوازم شیشه ای حجمی در دمای 20°C خواهد بود که این مساله در Z فاکتور خود را نشان می دهد

یعنی ما در هر دمایی که عمل کالیبراسیون را انجام دهیم با مشخص کردن دمای شرایط کار و پیدا کردن فاکتور Z ، حجم

نهایی را برحسب دمای 20°C (20°C محاسبه خواهیم کرد.

برای گزارش کالیبراسیون می توان از جدولی همانند زیر استفاده کرد.

۱- نوع ظرف

۲- حجم

۳- ml حجم

۴- V20

- ۵- نوع کالیبراسیون Ex or IN
- ۶- دمای محیط برحسب C°
- ۷- دمای آب مقطر برحسب C°
- ۸- میزان خطا
- ۹- نام کالیبره کننده
- ۱۰- تاریخ کالیبراسیون
- ۱۱- شماره ظرف

تذکر: دوره کالیبراسیون ظروف شیشه ای حجمی آزمایشگاه در کلاس A بسته به نوع کاربرد و حجم استفاده بین ۱ تا ۳ سال خواهد بود

کنترل کیفی پیپتور

پیپتور دستگاه بسیار ساده ای که حاوی یک مخزن مایع و یک پیپت دو راهه است بطوری که با کشیدن پیستون مایع از یک راه وارد پیپت شده و با فشردن پیستون مایع از راه دیگر خارج می شود. از پیپتور برای سرعت عمل و انتقال یک حجم معین از یک مایع بخصوص با حجم استوک استفاده می شود.

برای انجام کنترل کیفی از یک بشر یا استوانه مدرج کلاس A استفاده می شود بدین ترتیب که حجم معینی را توسط اهرم یا پیچ تنظیم مشخص نموده سپس مخزن را با آب مقطر پر می کنیم. با کشیدن و فشردن پیستون حجم مشخصی از آب مقطر وارد بشر یا استوانه مدرج کلاس A می شود که با خواندن حجم آن کالیبره بودن پیپتور بدست می آید. باید دقت نمود نحوه صحیح خوانش عدد استوانه مدرج یا بشر به موزات چشم فرد می باشد و در صورت صحیح نبودن زاویه خوانش عدد خوانده شده صحیح نخواهد بود.

کنترل کیفی قطره چکان (dropper) :

برای کنترل کیفی قطره چکان ابتدا باید از سالم بودن قطعه پلاستیکی متصل به نوک شیشه ای یا پلاستیکی شفاف اطمینان حاصل کرد .

قطره چکان های مورد استفاده در آزمایشگاه معمولاً حجمی برابر با ۵۰ لاندا در هر بار فشار قطعه پلاستیکی توزین می نمایند .
برای اطمینان از صحت حجم مورد انتظار قطره چکان به روش زیر اقدام می شود

ابتدا یک کاپ یا ظرف کوچک تمیز را انتخاب نموده و آنرا در وسط صفحه ترازوی دیجیتال کالیبره شده قرار می دهیم . برای اطمینان از درستی توزین ۱۰ قطره که معادل ۵۰۰ لاندا (نیم سی سی) از آب مقطر می باشد را در داخل کاپ ریخته و عدد توزین را مشخص می نماییم . میزان دقت منفی مثبت ۰/۰۱ می باشد که این عدد گاهی بسته به کیفیت قطعه پلاستیکی قطره چکان تا ۰/۰۲ نیز قابل قبول می باشد .

در هنگام خرید قطره چکان دقت به کیفیت قطعه پلاستیکی ضروری می باشد قطعات پلاستیکی خیلی خشک و دارای ترک نامناسب بوده و در طی استفاده حجم نامشخصی از محلول را تخلیه می نمایند .

برای کارهای کمی دقیق در آزمایشگاه استفاده از قطره چکان توصیه نمی شود اما برای انجام کارهای کیفی یک وسیله سریع و قابل اعتماد بوده و سرعت عمل کارکنان آزمایشگاه را بالا می برد .

پوآر

پوآر یک وسیله مکش برای اتصال به پیپت می باشد هر چند کالیبراسیون پوآر دارای ارزش علمی و حساسیت لازم در

آزمایشگاه نمی باشد اما دقت در حین استفاده از پوآر متصل شده به پیپت الزامی می باشد که شامل موارد زیر است

۱- همواره پوآر را به یک پیپت تمیز متصل نمایید

۲- دقت به محل مکش و تخلیه برای کارکنان آزمایشگاه الزامی می باشد تا در هنگام مکش بیش از حد مایع داخل

پیپت نشود . در صورت ورود مایع به داخل پوآر کارایی آن از بین رفته و همچنین موجب آلودگی آن خواهد شد

۳- پوآر را همیشه به دور از گرد و غبار نگهداری شود

۴- در صورت که پوآر حالت الاستیکی خود را از دست داده است آن را کنار گذاشته و بدلیل احتمال آلودگی با مواد

سمی یا بیولوژیک تحویل زباله سوزی شود



۵- رها کردن پوآر های از کار افتاده در محیط آزمایشگاه ممنوع بوده و موجب ایجاد سردرگمی برای کارکنان آزمایشگاه می شود

۶- استفاده از پوآر جزو الزامات آزمایشگاه بوده و باید به اندازه نیاز کارکنان در بخش فنی موجود باشد

۷- از بکار بردن پوآر هایی که رنگ اولیه آنها از بین رفته و یا تغییر رنگ داده اند باید خودداری شود زیرا موجب ریزش ذرات لاستیک در مایع برداشتی شده و ممکن است در نتیجه آزمایش تاثیر گذار باشد .

کالیبراسیون پمپ خلا در آزمایش TLC برای تشخیص مواد مخدر و روان گردان

برای انجام کالیبراسیون از سالم بودن پمپ خلا باید اطمینان حاصل نمود . برای اجرای کار به یک عدد مانومتر کالیبر شده و یا دارای گواهی کالیبر از طرف شرکت سازنده نیازمند می باشیم .

مانومتر نشان دهنده میزان ایجاد خلا توسط پمپ را باز نموده و با مانومتر کالیبر جایگزین می نماییم . سپس پمپ را روشن نموده و شیر خلا را پس از اطمینان از تخلیه هوای موجود در تانک کاملاً می بندیم . میزان خلا باید مقدار ۰/۵ تا ۰/۶ را نشان دهد . در صورت نمایش مقدار کمتر از اعداد فوق پمپ دارای ایراد بوده و باید توسط سرویس کار شرکت سازنده مورد بازدید قرار گیرد .

لازم است این کار بصورت دوره ای هر ۶ ماه یکبار انجام شده و مستندات آن در آزمایشگاه نگهداری شود .

توجه به میزان روغن موجود در دستگاه در هر سری کاری الزامی بوده و روغن مخصوص دستگاه باید تا نشانه محفظه پر باشد تا موجب کارکرد مطلوب دستگاه در حین کار شود .

شرح چند مورد از خطاها در کالیبراسیون تجهیزات و ابزارهای حجم سنجی آزمایشگاهی

انواع خطاهای مشاهده در آزمایشگاه شامل خطای سیستمیک و خطای راندوم می باشد. خطاهای سیستمیک خطاهایی است که باعث ایجاد تغییر در یک سمت (کاهش یا افزایش نتایج) می شوند.

خطاهای سیستمیک از نظر علت به دو دسته تقسیم می شوند:

- ۱- natural
- ۲- man made (توسط پرسنل)

علل شایع خطاهای سیستمیک:

- ۱- **Again** (ماندن): مواد شیمیایی و رازنتها در طی نگهداری دچار تغییر در ترکیب و غلظت می شوند. ممکن است کریستالیزه شده یا مورد حمله میکروب ها و قارچ ها قرار گیرند. نمونه ها هم در اثر نگهداری دچار تغییر می شوند. اثر لوازم شیشه ای و پلاستیکی در رازنتها و نمونه ها باید بررسی شود. در اثر ماندن رازنت ها و نمونه ها ناخالصی ها از هوا جذب می شوند. تغییرات مکانیکی دستگاهها در طول زمان به علت تغییر رطوبت و حرارت و دیگر شرایط نامناسب.
 - ۲- **Personal bias**: ممکن است پرسنل نادانسته خطایی را وارد نتایج آزمایش کنند. مثلا ممکن است مینیسکوس (meniscus) پیپت غلط خوانده شود یا OD دستگاه غلط خوانده شود (با زاویه نامناسب) و غیره.
 - ۳- **Laboratory bias**: تغییرات در استانداردها - ریجنت ها - محیط کار - متد و دستگاهها
 - ۴- **Inter and intra individual bias**: تغییرات بین افراد یا تغییرات در یک فرد. الف - متغیرهای بین فردی: نژاد - سن - جنس - حالت سلامت و غیره ب - متغیرهای داخل فردی: تغییرات ساعت به ساعت - روز به روز - فصلی و ماهانه
 - ۵- **Experimental error**: الف - تغییر و تفاوت بین گروههای مورد اندازه گیری ب - تفاوت روش ها مثل قند به روش اورتولوویدین و گلوکز اکسیداز خطاهای آنالیتیک (error Analytical) معمولا سیستمیک می باشند به دلیل فاکتورهای به کار رفته در یک سری آزمایش که همه آنها را دچار اشکال می کند. مثلا پیپتوری که اشتباه کالیبره شده باشد ممکن است باعث خطای systemic proportional Bias شود ولی پیپتوری که دقیق عمل نمی کند باعث random variability می شود.
 - ۶- خطاهای راندوم (Random Error) خطاهایی است که علت آنها مشخص نبوده و تحت کنترل نمی باشد این خطاها شانسی و تصادفی می باشد. خطاهای راندوم در مسیر ثابتی نبوده و ممکن است در هر جهت عمل کنند. (کاهش یا افزایش)
- شانس ایجاد خطای راندوم نسبت مستقیم با عوامل زیر دارد: کیفیت رازنتها - تعداد و مراحل و پیچیدگی تست - مهارت تکنسین - کیفیت وسایل - خطاهای پرسنل عدم دقت در وسایل حجمی انتقال نمونه یا رازنت می باشد مثلا خطای سمپلر و پیپتور وقتی خراب و فرسوده شوند. مثلا تغییر مقدار نمونه برداشته شده توسط سمپلر باعث خطای

نسبی راندوم می شود و مقدار خطا متناسب با غلظت ماده مورد نظر تغییر می کند. هر چه غلظت نمونه بیشتر باشد مقدار خطا بیشتر است.

۷- خطای توتال (Total Error) مجموع خطای سیستمیک (Bias/%) و خطای راندوم (CV) مشاهده شده در هر روش می باشد. خطای توتال در انجام هر روش آزمایشگاهی باید مورد توجه قرار گیرد. خطای سیستمیک در خطای راندوم هم اثر می کند. در تستهایی که از استاندارد با کیفیت بالا استفاده می شود خطای سیستمیک تا حدی قابل اغماض است. به خطاهای راندوم باید هرچه سریعتر رسیدگی کرده و آنها را برطرف کنیم.

صحت در گرو دقت است. اگر دقت وجود نداشته باشد صحت به دست نمی آید.

۸- خطاهای شایع در Levey-jennings Dispersion (پراکندگی):

جواب ها بسیار فاصله داشته و ممکن است خارج از SD_2+ و SD_2- باشد. علت Dispersion خطاهای راندوم (RE) و افزایش عدم دقت (Imprecision) می باشد. علل شایع: مثلا خراب بودن سمپلر - عدم دقت دستگاه اسپکتروفتومتر - عدم خلوص رازنتها - عدم کنترل حرارت - زمان و غیره

۹- Trend (تمایل): جواب های کنترل هفت روز پیاپی به یک سمت تمایل و حرکت داشته باشد. Trend بیشتر به علت خطای سیستماتیک (SE) می باشد.

علل شایع Trend: خراب شدن استاندارد - Expire شدن ریجنت - به هم خوردن کالیبراسیون دستگاه - اشکال در دستگاهها و غیره Shift (جابجا شدن)

جوابهای کنترل هفت روز پیاپی به صورت مداوم بالا یا پایین خط میانگین قرار گیرند.

علل شایع شیفت: تغییر ناگهانی در روند کار - تغییر استاندارد - عوض شدن کیت - تغییر کالیبراتور - تعمیر یا سرویس دستگاه - عوض شدن پرسنل و غیره



منبع :

- مبانی تضمین کیفیت در آزمایشگاههای محیطی و حدواسط ، ترجمه زهرا خاتمی ، سازمان جهانی بهداشت دفتر منطقه ای شرق مدیترانه
- نشریه مهندسی پزشکی شماره ۱۳۰