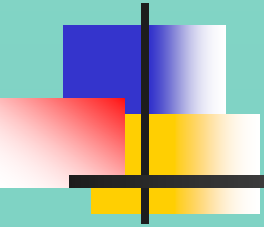


Parametry krytyczne
podczas walidacji procedur analitycznych
w absorpcyjnej spektrometrii atomowej.



R. Dobrowolski

Wydział Chemii
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej
pl. M. Curie Skłodowskiej 3
20-031 Lublin

Parametry procesu walidacji:

- selektywność
- zakres liniowy krzywej kalibracyjnej
- czułość metody
- granica wykrywalności
- granica oznaczalności
- odporność
- dokładność
- precyzja
- powtarzalność
- odtwarzalność

Walidacja procedury analitycznej obejmuje:

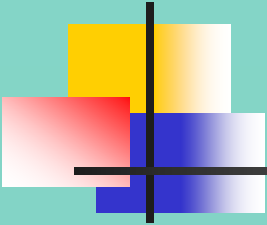


Określenie:

- parametrów roboczych procedury
 - zakresu zastosowania i ograniczeń procedury analitycznej
 - identyfikację czynników mogących zmieniać jej charakterystykę.
-
- Jaki analit może być oznaczany, w jakich matrycach i w obecności jakich interferentów
 - Jaką niepewnością będą charakteryzowały się wyniki ?

Weryfikacja: potwierdzenie, że procedura jest odpowiednia do założonego zadania analitycznego
(np. dla rozwiązania zadanego problemu analitycznego)

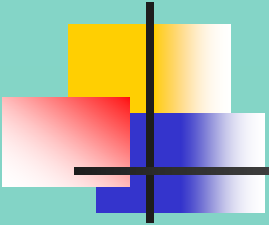
Walidacja w absorpcyjnej spektrometrii atomowej

- 
-
- Walidacja pełna: gdy badane są **wszystkie** istotne parametry (pomiarowe, działania) procedury analitycznej.
 - Walidacja częściowa: gdy badane są jedynie **niektóre** parametry procedury analitycznej.
 - Potwierdzenie: procedura dotycząca zwalidowanych procedur mających status normy. Nie ma potrzeby ich dodatkowego walidowania, należy jedynie **potwierdzić** możliwość ich prawidłowego stosowania laboratorium.

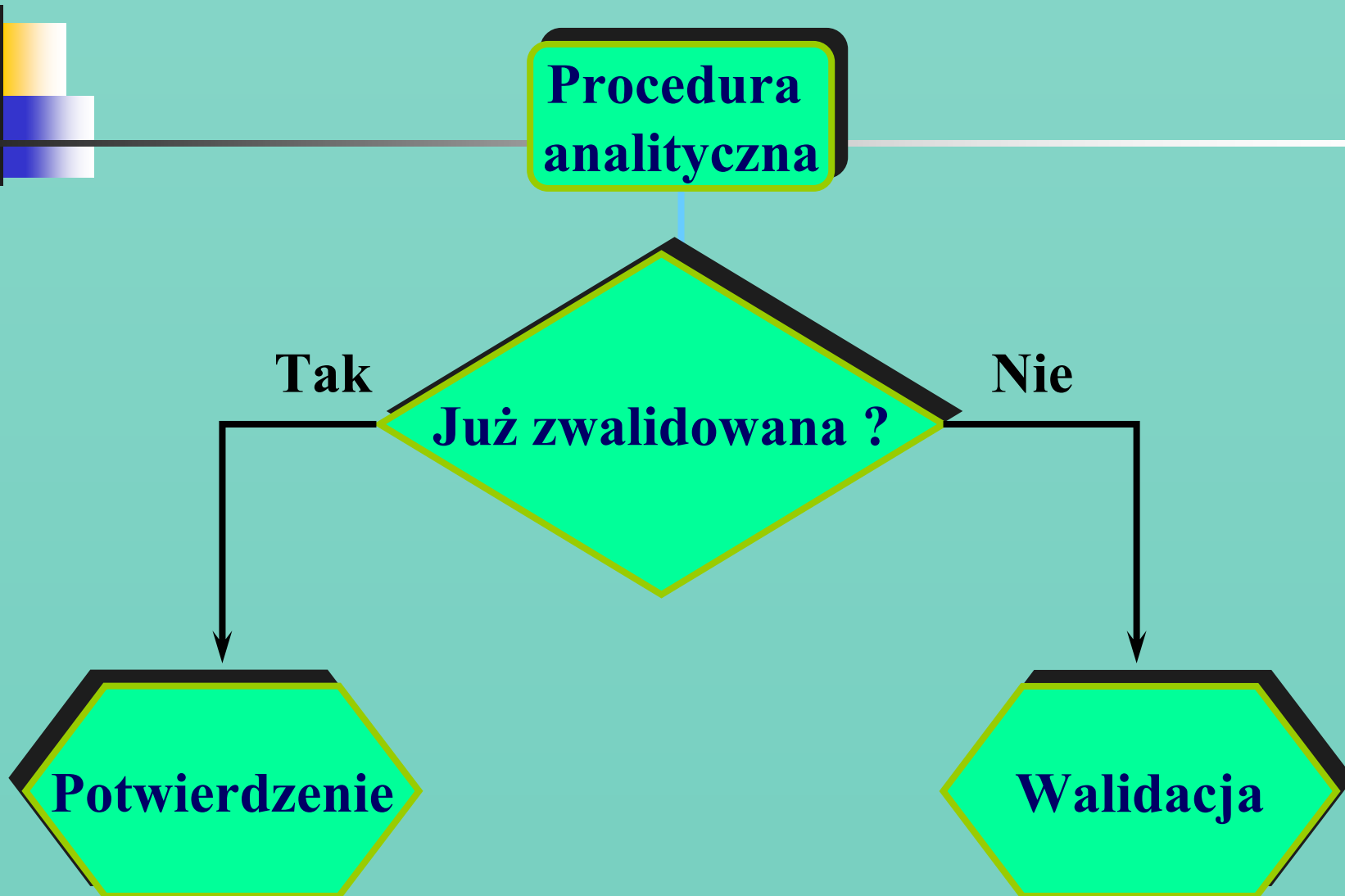
Składowe procedury analitycznej:

- pobieranie próbek
- homogenizacja próbek
- odważanie próbki
- mineralizacja
- odparowanie do sucha
- rozcieńczanie
- pomiar AAS

Metody znormalizowane i nie mające statusu normy

- 
-
- procedury mające status norm międzynarodowych, regionalnych i krajowych (*ISO, EN, PN, DIN, BS, ASTM....*),
 - procedury publikowane przez uznane organizacje (*AOAC dla artykułów spożywczych i rolnych; ICH dla analizy klinicznej,...*),
 - procedury publikowane w literaturze naukowej i technicznej.

Kiedy walidacja procedury jest wymagana ?





Które procedury analityczne powinny być w walidowane ?

- **nie mające statusu normy,**
- **opracowania własne,**
- **znormalizowane, gdy zastosowanie wykracza poza przewidziany zakres zastosowania,**
- **znormalizowane, po wprowadzeniu modyfikacji.**

Zakres walidacji

- Walidacja całej procedury,
- Walidacja pełnego zakresu stężeń (*oczekiwane potrzeby !*)
- Walidacja wszystkich matryc, stosownie do spodziewanych typów próbek

Procedura analityczna

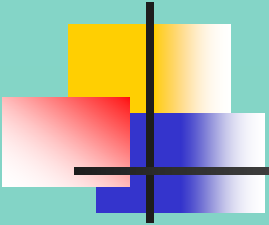
Pobieranie
i przygotowanie
próbek

AAS
kalibracja i pomiary

Przetwarzanie
danych

Wynik

Odporność walidowanej metody analitycznej



Odporność metody analitycznej jest wyrażana jako stabilność uzyskiwanych wyników podczas występowania niewielkich zmianam warunków eksperymentalnych opisanych w procedurze analitycznej.

Procedura analityczna nakłada ograniczenia na stosowane parametry eksperymentalne

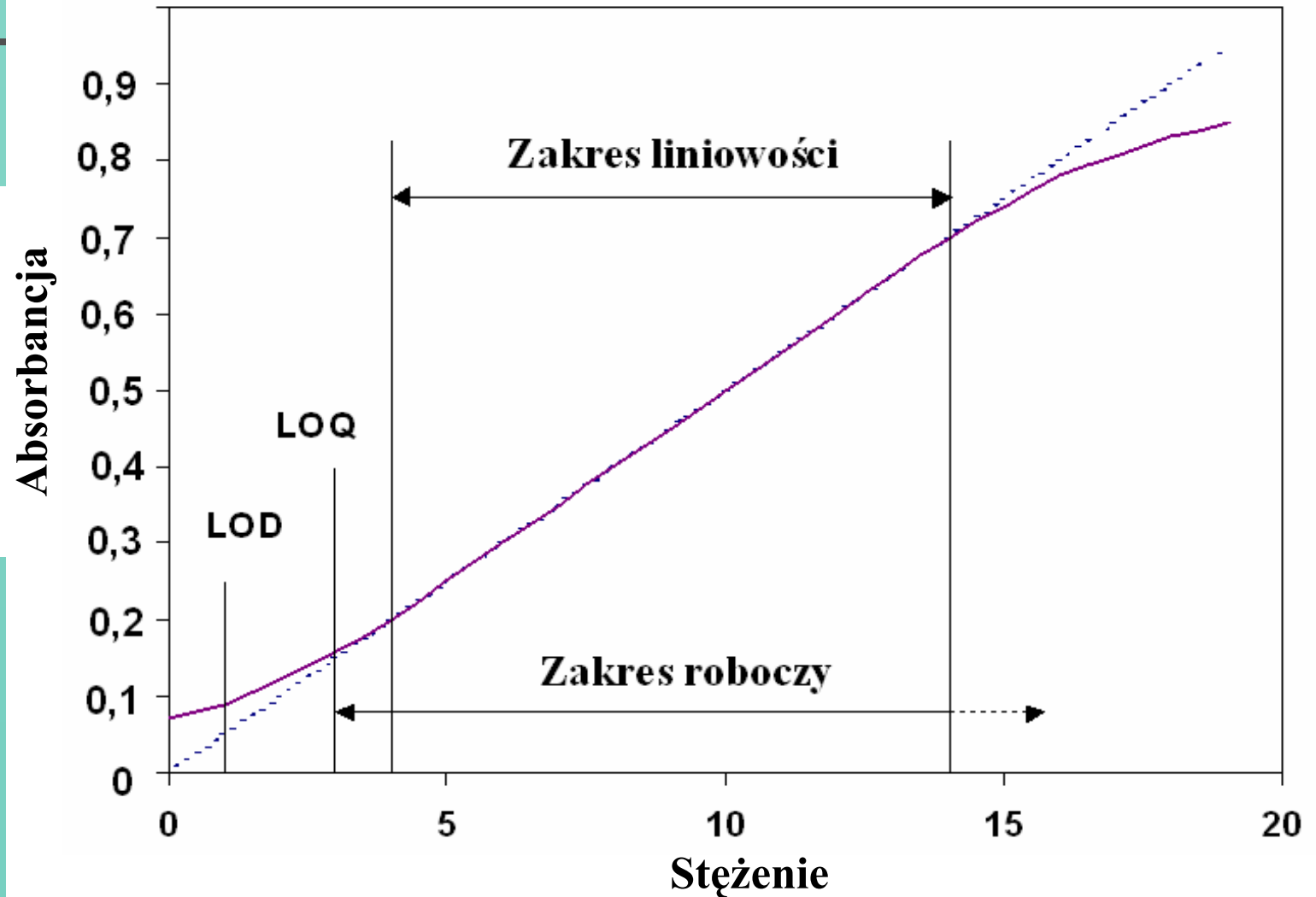
np. sposób pobierania próby, metodę mineralizacji, program czasowo-temperaturowy, sposób kalibracji, ...



Walidację odporności procedury analitycznej można przeprowadzić dwoma sposobami:

- poprzez badania międzylaboratoryjne prowadzone przez dostatecznie dużą liczbę laboratoriów (≥ 8) stosujących tę samą procedurę analityczną,
- w jednym laboratorium przeprowadzając planowaną serię eksperymentów, zmieniając niektóre parametry i obserwując ich wpływ na wynik analityczny

Zakres liniowości, zakres roboczy





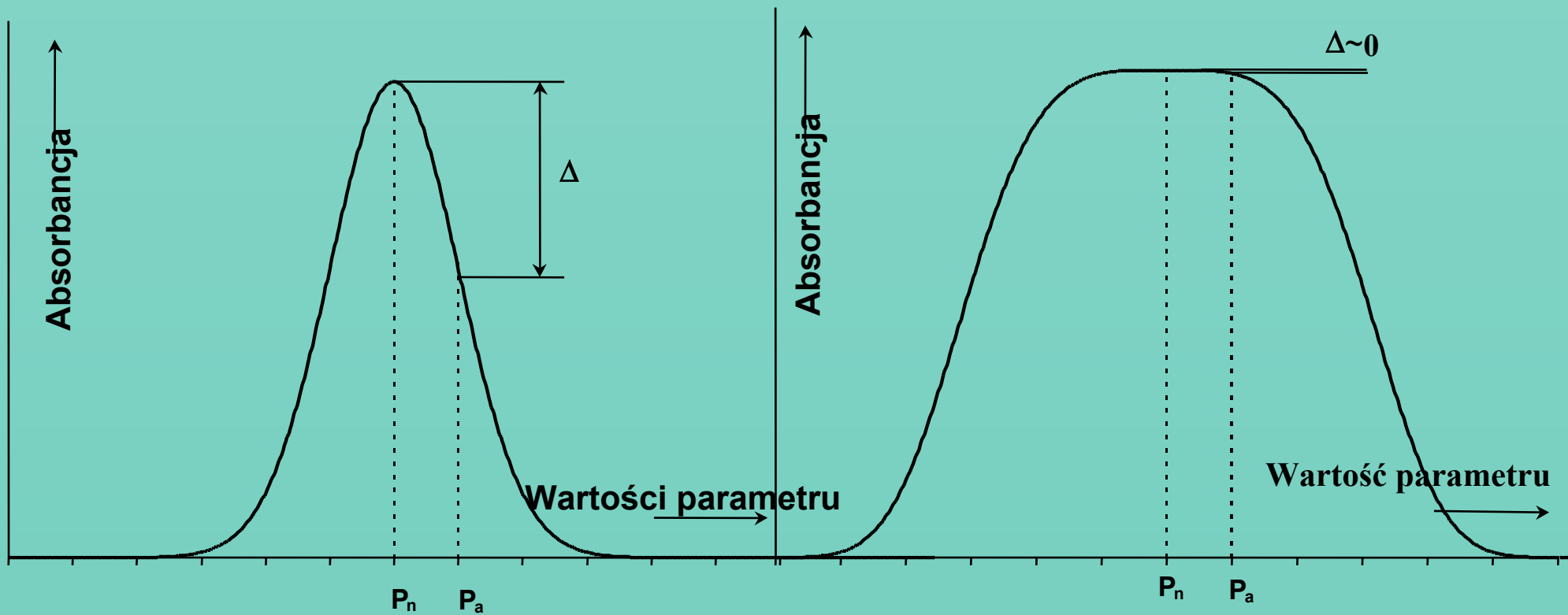
Polecany schemat badania odporności procedury analitycznej jest następujący:

- **Określenie czynników zmiennych, które prawdopodobnie mogą mieć największy wpływ na wynik analityczny,**
- **Dla każdego czynnika należy określić maksymalną zmienność, która może występować w rutynowej pracy,**
- **Zaplanowanie serii eksperymentów,**
- **Wykonanie eksperymentu i ocena wpływu poszczególnych czynników na wynik analityczny,**
- **Optymalizacja procedury postępowania w celu zmniejszenia wpływu poszczególnych czynników.**

Odporność a parametry krytyczne

labilny parametr

bierny parametr



Badanie odporności procedur analitycznych



**Identyfikacja zmiennych dla procedur: A, B, C, D,
zaplanowanie eksperymentu,**

**Przez systematyczną zmianę jednej zmiennej, określa się jej
wpływ na wynik oznaczenia,**

**Przegląd wyników dla określenia optymalnych warunków
postępowania analitycznego,**

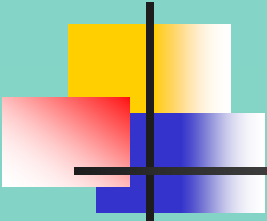
**Optymalizacja procedury analitycznej (uzyskanie informacji
o możliwych interferencjach),**



Składowe procedury analitycznej :

- pobieranie próbek
- homogenizacja próbek
- odważanie próbki
- mineralizacja
- odparowanie do sucha
- rozcieńczanie
- pomiar AAS

Parametry eksperymentalne roztwarzania gleby podczas oznaczania kadmu



Parametr jakościowy		Poziom nominalny (+)	Poziom alternatywny (-)	Jednostki:
A:	Temperatura	180	200	°C
B:	Czas	30	60	min
C:	Objętość HNO₃	5	5,5	ml
D:	Objętość HF	1	5,5	ml
E:	Symulacja	1	2	
F:	Symulacja	1	2	
G:	Symulacja	1	2	

Odporność

Planowanie badań odporności metody

Nr eksp.	1	2	3	4	5	6	7	8
Czynnik								
A	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
B	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
C	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
D	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
E	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
F	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
G	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Wynik	r	t	u	v	w	x	y	z

Wartość absorbancji jako funkcja parametrów krytycznych

Czynnik		1	2	3	4	5	6	7	8
A:	Temperatura	180	180	180	180	200	200	200	200
B:	Czas	30	30	60	60	30	30	60	60
C:	Objętość HNO ₃	5	5,5	5	5,5	5	5,5	5	5,5
D:	Objętość HF	5	5	5,5	5,5	5,5	5,5	5	5
E:	Symulacja	1	2	1	2	2	1	2	1
F:	Symulacja	1	2	2	1	1	2	2	1
G:	Symulacja	1	2	2	1	2	1	1	2
	Wynik	r	t	u	v	w	x	y	z
	Absorbancja	0,475	0,480	0,485	0,481	0,479	0,470	0,477	0,478

Ocena wpływu poszczególnych czynników na wynik

RÓWNANIE		Czynnik	odporność
$VA = \frac{1}{4} (r+t+u+v) - \frac{1}{4} (w+x+y+z)$	V_A 0,00425	Temperatura	TAK
$VB = \frac{1}{4} (r+t+w+x) - \frac{1}{4} (u+v+y+z)$	V_B -0,0043	Czas	TAK
$VC = \frac{1}{4} (r+u+w+y) - \frac{1}{4} (t+v+x+z)$	V_C 0,00175	Objętość HNO ₃	TAK
$VD = \frac{1}{4} (r+t+y+z) - \frac{1}{4} (u+v+w+x)$	V_D -0,0012	Objętość HF	TAK
$VE = \frac{1}{4} (r+u+x+z) - \frac{1}{4} (t+u+x+y)$	V_E - 0,0022	Symulacja	TAK
$VF = \frac{1}{4} (r+v+x+y) - \frac{1}{4} (t+u+w+z)$	V_F 0,00025	Symulacja	TAK
$VG = \frac{1}{4} (t+u+w+z) - \frac{1}{4} (t+u+w+z)$	V_G -0,0047	Symulacja	TAK

Podsumowanie:

- **wynik analityczny jest determinowany zmiennością parametrów proceduralnych, a w szczególności parametrów krytycznych,**
- **ilość parametrów krytycznych dla danej procedury analitycznej decyduje o jej odporności,**
- **optymalizację danej procedury analitycznej można przeprowadzić poprzez manipulację rodzajem i wartością parametrów krytycznych,**
- **dokładna kontrola parametrów krytycznych podczas realizacji procedury analitycznej przyczynia się do uzyskania wyników analitycznych obarczonych mniejszym błędem pomiarowym**