١

تقييم طرق التحليل والمعطيات

(١,١) متطلبات الطرق التحليلية واختيارها
Requirements and Choice of Analytical Methods

يعتمد اختيار الطريق المستخدمة في تحليل الأغذية على عدد من العوامل، وكذلك يتعلق بالرغبة أو الحاجة إلى تحقق الطريقة المختارة بعضاً أو كلاً من الصفات التالية:

١– التوافق Precision: وهو قياس لقابلية إعادة جواب ما ضمن قياسات عدة أجراها المحلل نفسه أو محللون مختلفون في المختبر ذاته باستعمال نفس طريقة العمل والجهاز.

٢– التكرارية Reproducibility: تتشابه من حيث المبدأ مع التوافق إلا أنها تعتمد على القدرة على حصول محللين مختلفين على الجواب نفسه وفق مختبرات مختلفة عند استعمال طريقة عمل واحدة.

٣– الدقة Accuracy: وتعبر عن إمكانية قياس ما يزمع المحلل قياسه، مثل المحتوى من الدهون في المواد الغذائية بدلاً من قياس جميع المواد التي لها ذوبانية مشابهة، أو قياس المحتوى من البروتين لغذاء ما بدلاً من قياس النيتروجين الكلي في جميع المكونة المؤلفة لهذا الغذاء والتي تحوي النيتروجين في تركيبها.

٤- سهولة عملية التحليل: وهي قياس مدى سهولة إنجاز التحليل بيد فني غير كامل التأهيل.

٥- اقتصادية التحليل: وهو تعبير عن كلفة التحليل متضمناً كلفة الكواشف والجهاز والوقت.

٦- السرعة: ونعني بها الزمن اللازم لإنجاز تحليل معين. وقد تكون السرعة مهمة عندما تتطلب طريقة التحليل إجراء عمل بسرعة ومباشرة بعد خطوات معينة، مثل معرفة هل تحتوي منتوجات غذائية مكونات معينة بمستويات أدنى أو أعلى من الكمية المسموح بها.

٧- الحساسية: وهي قياس لقدرة طريقة التحليل على كشف وقياس مكونات الأغذية أو ملوثاتها في مستوى من التركيز شديد الانخفاض، كما في العناصر الثقيلة وبقايا المبيدات. وتستطيع الطرق الحديثة كالكروماتوغرافيا الغازية والمرتبطة بجهاز ماسيكترو (GC-Mass) أن تكشف مستويات قد تصل حتى $١٠^{-١٠}$، وتبلغ حساسية الطرق اللونية المعروفة والمقرة إلى نحو $١٠^{-٧}$ جم في حين يمكن أن تصل حساسية الطرائق التقليدية للتحليل الحجمي والوزني إلى $١٠^{-٣}$ جم فقط.

٨- التحديد النوعي: ويعبر عن القدرة على كشف وتعيين مكونات معينة في الأغذية بوجود مركبات مشابهة، مثل تقدير السكريات الأحادية في أغذية تحوي عدداً من السكريات المختزلة وغير المختزلة.

٩- السلامة: تتصف معظم الكواشف المستعملة في تحليل الأغذية بأنها خطرة بما فيها خطورة التآكل الناشئة من الأحماض وخطورة الاشتعال في بعض المذيبات العضوية.

١٠– الاعتماد الرسمي: تقوم عدد من الهيئات الدولية بالموافقة على اعتماد طرق تحليل درست بصورة تفصيلية وشاملة من قبل محللين مستقلين، وبرهن على أنها مقبولة من الهيئات المتعددة المختصة، ومن هذه الهيئات:

أ) أيزو (ISO) المنظمة الدولية للتقييس.

ب) AOAC جمعية الكيميائيين التحليليين الرسميين، وتنشر طرقها في كتابها المعروف باسم طرق AOAC.

يعتمد الاختيار النهائي لطريقة التحليل على أن أي عامل من العوامل السابقة هو الأكثر أهمية، وفي حالة الاختلاف على التطابق مع المواصفات القانونية من المهم جداً استعمال طريقة تحليل معتمدة رسمياً، بينما في أغراض التحليل الروتيني لضبط الجودة يكفي الأخذ بعوامل مهمة كالسرعة والكلفة والإحكام لتقرير الطريقة المناسبة.

(١,٢) عرض النتائج
Presentation of Data

يجب أن تتصف تقارير القياسات التحليلية بالوضوح والموضوعية مما يمكن من قراءة النتيجة بسرعة ودون أي غموض. ويمكن إنجاز ذلك بسهولة باستعمال الجداول لإيضاح عرض النتائج والخطوط البيانية لعرض التغيير المنجز أو للتدليل على التغيرات، مثلاً تغيرات التركيب مع الزمن ودرجة الحرارة.

إن أغلب البيانات المستعملة في التحليل الكمي هي منحنيات معايرة calibration curves، والتي قد تكون مستقيمة أو منحنية. ويفضل عموماً الحصول على بيانات مستقيمة أكثر من المنحنية ؛ لأنها تسمح باستعمال الإحصاء بصورة أفضل، كما أنها تمكن من حساب تراكيز العينات المجهولة بدقة ويسر. ينبغي مراعاة النقاط التالية عند تحضير وعرض البيانات:

١- يجب رسم (التركيز القياسي مثلاً) على المحور الأفقي (X) ورسم (الامتصاص مثلاً) على المحور العمودي (Y).

٢- يجب أن يعطى لكل رسم عنوان واضح ودقيق.

٣- يجب إيضاح الكميات والوحدات بكتابة واضحة على المحورين.

٤- يجب استعمال أرقام بسيطة، مثلاً ١٠، ٢٠، ٣٠ ... على كل محور وليس ٠,٠٠٠١، ٠,٠٠٠٢، ٠,٠٠٠٣ ... وذلك بعد تعديل كتابة الأرقام لتضمن عامل الضرب المناسب، مثلاً $١٠^{-٥}$.

٥- يجب أن تكون الرموز المستعملة لتوضيح كل نقطة على الرسم البياني واضحة ويفضل استخدام الرموز كالدوائر والمثلثات على استعمال النقاط الصغيرة ما أمكن.

٦- مراعاة أن تكون المسافات بين نقاط الرسم البياني متساوية ما أمكن.

٧- عندما يكون الرسم البياني قابلاً للتطبيق مع المعادلة الخطية (y=mx+c) يرسم أفضل المستقيمات بالاستعانة ببرنامج الحاسوب المتوافر الذي يسمح بإنشاء الخط المستقيم بدقة تفوق دقة الحساب العادي. ويجب أن تسمح هذه البرامج بتعديل التدريجات آلياً لتعطي الميل المطلوب لزاوية لا تختلف كثيراً عن ٤٥°.

٨- يجب تبيان خطأ كل قيمة باستعمال خط عمودي صغير يمثل طوله مقدار الخطأ في المتحول التابع.

(١,٣) نوعية النتائج
Quality of Data

تخضع جميع القياسات إلى درجات مختلفة من الأخطاء يصعب تجنبها، وتكون متأصلة في الجهاز أو طريقة العمل أو أنها ناجمة عن سوء في التقنية أو

التصميم، ويمكن إنقاصها أو التخلص منها بخطوات عملية مختلفة تساعد في تجنب مثل هذه الأخطاء.

تتصف الأخطاء النظامية بأنها غير قابلة للعلاج الإحصائي، فهي تتعلق بإجراءات طريقة عمل معينة، وعوامل تشمل مشكلات التصميم أو عمر الجهاز، أو الأخطاء الناجمة عن وجود مركبات تتداخل في تحليل خليط الأغذية، مثلاً تأثر وجود مركبات مختزلة غير سكرية في المزيج على تقدير السكريات المختزلة فيه المرجعة فيه.

تتعدد مصادر الأخطاء العشوائية، ويمكن إنقاصها إلى حد أدنى باستعمال المكررات واستعمال المتوسط وهي تشمل أخطاء الإنسان الناشئة من القراءة غير الصحيحة للسحاحة أو الماصة أو الجهاز الذي يضم مقياساً تمثيلياً بدلاً من المقياس الرقمي أو أن تنشأ من تصميم سيئ للتجارب التي يسهم فيها الضوء الزائد أو درجة الحرارة في تفكيك بعض مكونات الأغذية، مثلاً حمض الأسكورييك.

(١,٣,١) إجراءات تحسين نوعية النتائج

Procedures to Improve Quality of Data

هناك عدد من الخطوات والمحاذير تتخذ لتجنب الكثير من الأخطاء الآنفة الذكر في الفقرة السابقة مما يحسن الاعتماد على المعطيات الناتجة.

١- نوعية الأدوات الزجاجية: يجب أن تكون الأدوات الزجاجية (الماصات، السحاحات، الأوعية الحجمية، خلايا القياس بالمطياف، ...) وكذلك المعدات الزجاجية المستعملة في التحليل من نوعية وجودة ملائمة للإحكام المطلوب.

٢- التعامل ونظافة الأدوات: يجب التعامل مع الأدوات الزجاجية بطريقة صحيحة، مثلاً يجب عدم تسخين الأوعية المدرجة؛ لأنها أوعية معيارية في درجة حرارة محددة، ويعد الغسيل الجيد للأدوات الزجاجية مهماً في الحصول على نتائج ذات معنى، وذلك باستعمال مواد تنظيف مثل حمض النيتريك، أو مزيج من حمض

الكبريتيك والنيتريك المركزين، ثم الشطف بالماء العادي وأخيراً بالماء المقطر، وتجنب استعمال كميات زائدة من المنظفات.

٣- تحليل العينة الضابطة: للتخلص من التداخلات التي تتسبب بها المواد المستعملة في التحليل، نقوم بتحليل عينة ضابطة بإضافة الكواشف المستعملة في تحليل العينة باستثناء العينة نفسها، وتحذف القيمة التي تعطيها العينة الضابطة من كل من القيم التي تعطيها العينات المختلفة.

٤- التكرارية: يجب إجراء أكبر عدد ممكن من المكررات لتخفيف تأثير الأخطاء العشوائية كما أوضحنا سابقاً.

٥- تجارب الاستعادة: لقياس كفاءة تحليل مركب غذائي، مثلاً أحد المواد المضافة، يضاف إلى عينات الغذاء كمية معلومة من هذا المركب الغذائي، ثم تحلل بعدئذ العينات لمعرفة النسبة المئوية لاستعادة المركب الذي أضيف.

٦- العينات المرجعية: يمكن تقدير مدى صلاحية طريقة تحليل بإجراء تحاليل على أغذية معروفة التركيب. وعينات غذاء معيارية متاحة تجاريا، وهي تعطي قياساً لا يستغنى عنه فعالية طرق التحليل.

٧- اختبار التعاون: تسمح مقارنة النتائج التي تعطيها عدد من المختبرات مع النتائج الحاصلة من مختبر معين يستعمل الطريقة ذاتها في التحليل بالكشف عن أية أخطاء روتينية في أي مختبر يعطي نتائج مختلفة دائماً عن نتائج المختبرات الأخرى الداخلة في التعاون.

٨- التحليل التأكيدي: ينبغي مقارنة النتائج التي يعطيها استعمال طريقة ما بالنتائج التي تعطيها طريقة مرجعية مختارة منشورة من قبل إحدى الهيئات المعترف بها عالمياً مثل المنظمة الدولية للتقييس، جمعية الكيمائيين المحللين الرسمية، ومما يسمح بإجراء قياس لمدى صلاحية الطريقة المستعملة.

(١,٤) التقييم الإحصائي لجودة المعطيات
Statistical Assessment of Quality of Data

غالباً ما نحتاج عند إجراء تقييم طريقة تحليل إلى معرفة أحكامها، وتكراريتها، ودقتها. وثمة عدد من الإجراءات الإحصائية لمعالجة المعطيات ولقياس المعايير السابقة.

(١,٤,١) التوافق Precision

ويعرف بأنه مدى قرب قيم المكررات من بعضها ببعض، ويتأثر بصورة رئيسة بالأخطاء العشوائية المترافقة مع طريقة التحليل.

وإحدى طرق تقدير التوافق هي حساب الاختلاف الذي يعرف بأنه الفرق بين كل قيمة والمتوسط. وهو يعد الأساس في كثير من القياسات المهمة للتبعثر بما فيها الانحراف المعياري واختبار F. ويحسب الاختلاف (variance) من الفرق بين القياسات الفردية، وعدد القراءات المأخوذة والمتوسط.

يعطي حساب الانحراف المعياري قياساً لانتشار سلسلة من النتائج، ويشكل إحدى طرق التعبير عن الاختلاف بين قيم المكررات. وهو يعتمد على حقيقة أن قياسات أعداد كبيرة من العينات (أعداد كبيرة من المكررات) تعطي منحنى توزع طبيعي. ويحسب بأخذ الجذر التربيعي وفق المعادلة التالية:

$$\text{الانحراف المعياري} = \sum \frac{(X_i - X)^2}{n - 1}$$

ويستعمل (n-1) في الانحراف المعياري بدلاً من n وهو عدد العينات المأخوذة، للأخذ بالحسبان ازدياد الخطأ كلما كان عدد العينات أصغر. فمثلاً إذا كان عدد العينات ٣٠ أو يزيد فمن الممكن استعمال n في المعادلة.

وبخلاف الاختلافات يعبر عن الانحراف المعياري بالوحدات نفسها التي تعبر عن المتوسط لذلك فهو يعد أكثر فائدة من الاختلاف في الأغراض الوصفية. بينما يظل الاختلاف أكثر فائدة في التحاليل الحسابية.

يحسب الانحراف المعياري مباشرة وبسهولة باستعمال البرمجيات في الحواسب.

ويرجع إلى الخطأ المعياري للمتوسط (SEM) عندما يكون من المهم معرفة مدى بعد متوسط مجموعة من القراءات عن المتوسط المجهول لسائر الإحصائية بدلاً من الاكتفاء بمعرفة انتشار النتائج. ويساوي الخطأ المعياري الانحراف المعياري لسلسة من القراءات مقسوماً على الجذر التربيعي لعدد العينات.

$$\text{الخطأ المعياري SEM} = \frac{\text{الانحراف المعياري}}{\sqrt{n}}$$

ويتناقص الخطأ المعياري المتوسط بازدياد عدد العينات، ويزداد اقتراب النتيجة من المتوسط (الحقيقي) للعدد غير المحدود من القراءات.

والطريقة الرابعة لقياس الإحكام هي معامل التغيرية (CV). ويعبر عنه عادة بنسبة مئوية من الانحراف المعياري المتوسط :

$$CV = \frac{\text{الانحراف المعياري}}{\text{المتوسط}} \times ١٠٠$$

وهو يعطي قياس الاختلاف الحاصل حول قيمة المتوسط حيث يستدل على ازدياد التوافق من القيمة الصغيرة لمعامل الاختلاف.

(١,٤,٢) التكرارية Reproducibility

توصف قابلية الإعادة بأنها مقارنة التوافق بين طريقتين أو بين مختبرين أو بين محللين وتقدر إحصائياً بإجراء اختبار F الذي يقارن بين اختلافات مجموعات المعطيات.

يعتمد اختبار F على افتراض أساسي هو فرضية الصفر null وهي أنه لا يوجد فرق معنوي بين الاختلافات لمجموعتين من المعطيات ومن ثمَّ بين الإحكام النسبي لطريقتي التحليل. وإذا كانت هذه الفرضية صحيحة فإن النسبة بين قيمتي الإحكام يجب أن تساوي١. وعملياً، ونظراً لأن قيم الانحرافات المعيارية محسوبة من عدد محدود من المكررات، فإن قيمة F تختلف عن ١ حتى لو كانت فرضية الصفر صحيحة. وترفض فرضية الصفر إذا تجاوزت قيمة F المحسوبة قيمة F الحرجة (التي تعطيها جداول الإحصاء) مع القيمة ذاتها لدرجات الحرية (وهي عادة عدد العينات منقوصاً منها واحد).

(١,٤,٣) الدقة Accuracy

يستخدم اختبار ستودنت T (Student's Test) لمقارنة الدقة النسبية بين طريقتين أو لتقدير فيما إذا كان ثمة فرق معنوي بين طريقتي التحليل. يقارن هذا الاختبار بين متوسط تحليل المكررات في الطريقتين على أساس الفرض الأساسي، أو فرضية الصفر، وهي عدم وجود فرق معنوي بين قيم متوسط لمجموعتي النتائج. ويقسم عدد المرات التي يكون فيها الفرق بين متوسطين أعلى من الخطأ المعياري للفرق (قيمة t). تحصل على قيمة t الحرجة من الجداول بدلالة درجة الحرية.

(١,٥) الأرقام المعنوية
Significant Figures

يستخدم مصطلح "الأرقام المعنوية" إلى حد ما بطريقة غير دقيقة لوصف الحكم على عدد الأرقام التي تسجل في التقرير وكثيراً ما يكون هذا الحكم غير صحيح فتضيع بعض الأرقام ذات المعنى والأهمية بينما تبقى بعض الأرقام التي ليست لها أهمية. وفيما يلي بعض القواعد التي تحدد عدد الأرقام المعنوية التي يمكن تسجيلها في التقرير:

١- تعتبر القيمة مكونة من أرقام معنوية عندما تكون كل أرقامها حقيقية ما عدا الرقم الأخير الذي يكون مشكوكاً فيه مثلاً إذا كتبت القيمة كـ ٦٤,٧٢ فهي تتكون من أربعة أرقام معنوية منها ثلاثة أرقام مؤكدة ٦٤,٧ والرقم الرابع مشكوك في معنويته. وهكذا فإن الرقم ٢ مشكوك فيه لحد ما وقد يكون ١ أو ٣.

٢- الأرقام التي تكون أي قيمة تمثل الأرقام المعنوية بصرف النظر عن موقع الفواصل العشرية. وهذا ينطبق أيضاً على الأرقام التي تحتوي على أصفار بشرط أن تكون محاطة من الجانبين برقم. مثلاً ٦٤,٧٢ ؛ ٦,٤٧٢ ؛ ٠,٦٤٧٢ و ٦,٤٠٧ كلها تحتوي على أربعة أرقام معنوية. لاحظ أن الصفر المسجل إلى يسار الفاصلة العشرية استخدم فقط ليشير إلى أنه لاتوجد أرقام فوق الواحد. كان يمكن أن تكتب هذه القيمة كـ (٠,٤٦٧٢) لكن وضع الصفر إلى يسار الفاصلة أفضل حتى لا يكون هناك شك في وجود رقم قبل الفاصلة.

٣- هناك اعتبارات خاصة بالنسبة لوضع الأصفار:

أ) الأصفار بعد الفاصلة العشرية دائماً تعتبر أرقاماً معنوية مثلاً ٦٤,٧٢٠ و٦٤,٧٠٠ كليهما تحتويان على خمسة أرقام معنوية.

ب) الأصفار الواقعة قبل الفاصلة العشرية بدون أرقام متقدمة (سابقة) لها لا تعتبر أرقاماً مئوية. وهكذا فالرقم ٠,٦٤٧٢ يحتوي على أربعة أرقام معنوية فقط.

ج) الأصفار بعد الفاصلة العشرية لا تعتبر أرقاماً معنوية إذا لم توجد أرقام قبل الفاصلة العشرية. مثلاً "٠,٠٠٧٢" لا توجد فيه أرقاماً قبل الفاصلة العشرية لذلك فإن هذه القيمة تحتوي على رقمين معنويين فقط. وبالمقابل فالعدد ١,٠٠٧٢ يحتوي على خمسة أرقام معنوية.

د) عندما تكون الأصفار في نهاية العدد لا تكون أرقاماً معنوية مثلاً العدد "٧٠٠٠" يحتوي على رقم معنوي واحد. ولكن إذا أضفنا فاصلة عشرية للعدد وصفراً آخر فسيكون العدد ٧٠٠٠,٠ وبهذا يحتوي العدد الآن على خمسة أرقام معنوية.

(١,٦) تقريب الأعداد

Rounding off Numbers

هذه العملية مهمة جداً في جميع مجالات التحليل، ولكنها قد تقود لأخطاء كبيرة إذا كانت عملية التقريب غير صحيحة، ومن الأفضل أن تتم هذه العملية على النتائج الأخيرة. أما القواعد الأساسية لعملية تقريب الأعداد فهي كما يلي:

١- إذا كان الرقم المراد تقريبه أقل من "٥" فيتم إهماله ويحتفظ بالأرقام الباقية كما هي بدون تغيير. مثلاً العدد "٦٤,٧٢٢" يتمم إلى "٦٤,٧٢".

٢- إذا كان الرقم المراد تقريبه أكثر من "٥" يتم إسقاطه ويزاد الرقم الذي يقع قبله بواحد. مثلاً "٦٤,٧٢٧" يتمم إلى "٦٤,٧٣".

٣- إذا كان الرقم المراد تقريبه يساوي "٥" والأرقام التي توجد بعده أصفار فحينها يسقط الرقم ويزاد الرقم الذي يقع قبله بواحد إذا كان ذلك الرقم فردياً، أما إذا كان ذلك الرقم زوجياً فهنا يحتفظ بذلك دون تغيير. مثلاً العدد "٦٤,٧٢٥" يتمم إلى "٦٤,٧٢" والعدد "٦٥,٧٠٥" فيتمم إلى "٦٥,٧٠" بينما يتمم "٦٤,٧١٥" إلى "٦٤,٧٢".