

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر
شماره سند:		صفحه: ۱ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: میکروبیشناسی

دستورالعمل دستگاه PH متر

هدف:

PH متر برای تعیین غلظت یون هیدروژن در یک محلول کاربرد دارد. اگر این دستگاه با احتیاط استفاده و کالیبر شود قدرت اسیدی محلول را اندازه گیری می کند. PH مترها گاهی دستگاه تجزیه PH، نمایشگر PH و یا سیستم الکتروشیمی نیز نامیده می شوند.

اندازه گیری PH به روش الکترونیکی به کمک الکتروود انجام می شود. الکتروود یک سنسور الکتروشیمیایی است که شامل یک الکتروود شناساگر و یک الکتروود مرجع می باشد ولتاژ غشاء الکتروود متناسب با PH محلول نمونه تغییر می کند ولتاژ غشاء الکتروودهای معمولی که امروز استفاده میشوند در $PH = 7$ برابر صفر mv میلی ولت میباشد.

موارد استفاده از PH متر:

در آزمایشگاه بالینی از آن در کنترل محیط های کشت اندازه گیری بافر های قلیایی و یا اسیدی و محلول ها استفاده می شود. در آزمایشگاههای تخصصی، میکروالکتروودها برای اندازه گیری PH فراورده ای خون کاربرد دارند.

اصول عملکرد:

PH متر غلظت یون هیدروژن (H^+) را با استفاده از الکتروود حساس به یون (H^+) اندازه گیری می کند در شرایط ایده آل این الکتروود در حضور یک نوع یون کار میکند. ولی در عمل همیشه با دیگر یون های موجود در محلول تداخل دارد. الکتروود PH معمولاً یک الکتروود ترکیبی است، به این معنی که یک الکتروود رفرانس و یک الکتروود داخلی در داخل یک محفظه شیشه ای گنجانده شده اند. انتهای محفظه از غشاء شیشه ای و حباب مانند است که نسبت به یون ها حساس می باشد. راس الکتروود داخلی در داخل آن قرار دارد. بخش داخلی و بیرونی محفظه حاوی KCl و HCL ۰.۱ مولار (محلول رفرانس) است. الکتروود رفرانس (کاتد) در درون و آند در بیرون آن قرار دارد. الکتروود داخلی و الکتروود رفرانس معمولاً از یک جنس ساخته شده اند.

این وسیله مانند یک پیل گالوانیزه کار میکند. الکتروود رفرانس در مراحل اندازه گیری بدون تغییر باقی می ماند. قسمت انتهایی محفظه به یون ها حساس است. در واقع بخشی است که در تماس با محیط اندازه گیری می باشد. تبادل یون ها به وسیله این غشاء شیشه ای انجام می شود. این قسمت باید به طور متناوب با محلول KCl برای برقراری مجدد تبادل یونی پر شود در غیر این صورت با از دست دادن یون ها و تبخیر، این تبادل یونی به درستی انجام نخواهد شد.

انتهای محفظه شیشه ای الکتروود PH با یک لایه ژل در قسمت داخلی و خارجی پوشیده شده است و مانند یک محیط اندازه گیری عمل میکند یون سدیم (Na^+) در ژل بیرون از حباب شیشه ای داخل محلول و یون هیدروژن (H^+) در ژل منتشر می شود. این ژل

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر
شماره سند:		صفحه: ۶ از ۲
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: میکروبیشناسی

سبب انتخابی عمل کردن الکترود PH برای یون می شود، یون هیدروژن (H^+) نمی تواند از غشاء شیشه ای الکترود PH عبور کند، در حالی که یون سدیم عبور کرده و سبب تغییر پتانسیل پیل می گردد. این تغییر به وسیله PH متر اندازه گیری می شود.

نحوه عملکرد PH سنج:

تماس دومایع با یکدیگر می تواند موجب تولید پتانسیل الکتریکی شود. PH سنج ها در واقع یک سلول یا پیل الکتروشیمیایی می باشد. پیل ها از دو الکترود تشکیل شده اند و در PH سنج، دو الکترود عبارتند از الکترود مرجع کالومل و الکترود شیشه ای.

یک PH سنج در اصل، پتانسیل الکتروشیمیایی بین یک مایع معلوم در داخل الکترود شیشه ای و یک مایع مجهول در بیرون آن را اندازه گیری می نماید. البته برای جدا سازی دو مایع از یکدیگر نیاز به یک غشاء می باشد. توجه داشته باشید که دستگاه فقط ولتاژ الکتریکی را می سنجد.

از آنجائی که حباب شیشه ای نازک بیشتر به یون های کوچک و سریع الانتقال هیدروژن اجازه فعل و انفعال با شیشه را می دهد، لذا الکترود شیشه ای، پتانسیل الکتروشیمیایی یون های هیدروژن یا پتانسیل هیدروژن را اندازه گرفته و این اختلاف پتانسیل به PH محیط نسبت داده می شود. این اختلاف پتانسیل را به کمک معادله نرنست میتوان به دست آورد ($E = -0.05916 \times PH$)

از معادله نرنست، می توان نتیجه گرفت هر واکنشی که شامل یون های هیدروژن باشد، دارای پتانسیل وابسته به غلظت یون هیدروژن است

نکات مهم هنگام استفاده از الکترود:

۱- برای جلوگیری از خشک شدن الکترود PH سنج میبایست بعد از هر بار استفاده از آن با آب یا کلرید پتاسیم شستشو شوند. برای فواصل زمانی طولانی، پیشنهاد می شود الکترود در محلول کلرید پتاسیم با $PH = 4$ با بفر کالیبراسیون اسیدی نگهداری شود.

۲- اگر الکترود PH که در محلول اسیدی مرطوب نگهداری می شود قبل از استفاده و قرار دادن آن در محلول نمونه شستشو نشود می تواند روی نتایج تاثیرات نامطلوبی گذاشته و مقادیر به دست آمده غیر واقعی شوند.

۳- با توجه به اینکه محلول های کالیبراسیون از بافرهای شیمیایی با PH تقریباً ثابت تشکیل شده اند هر گونه آلودگی شیشه حاوی نمونه با بافر باعث بروز خطا می شود.

۴- اگر الکترود PH را به مدت طولانی در آب مقطر قرار دهید به دلیل اینکه الکترود دارای محلول کلرید پتاسیم می باشد به تدریج کلرید پتاسیم موجود در الکترود وارد آب مقطر شده و در نتیجه موجب بروز اختلال در کار الکترود می شود.

۵- از قرار دادن الکترود در محلول هایی که با نقره واکنش می دهند می بایست خودداری شود.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر صفحه: ۳ از ۶
شماره سند:		بخش استقرار: میکروبیشناسی
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

۶- توصیه می شود از الکترود PH برای محلول های حاوی موادی نظیر فلزات سنگین، پروتئین ها، آب مقطر (به دلیل ناچیز بودن یون در آن)، محلولهای حاوی سدیم بالا، سولفید، محلولهای آلی و بافرهای تریس به دلیل اینکه موجب کاهش طول عمر الکتروود می شود، استفاده نشود.

۷- طول عمر الکتروود های PH اگر به درستی نگهداری شوند حدود دو سال تعیین شده است و پس از این مدت می بایست تعویض شوند.

۸- فرسودگی یک الکتروود موقعی محرز می شود که نمایش میزان پتانسیل الکتریکی محلول یونی مورد آزمایش بیش از ۲۰ ثانیه از زمان فرو بردن الکتروود در آن به طول بیانجامد.

۹- الکتروودهای شیشه ای نسبت به ضربه های مکانیکی بسیار حساس می باشند.

۱۰- از تشکیل حباب هوا در نوک الکتروود پس از قرار گرفتن در محلول می بایست جلوگیری شود. زیرا حباب هوا موجب رانش پتانسیل الکتروود می شود.

تمیز کردن الکتروود شیشه ای:

یکی از دلایلی که موجب می شود الکتروود PH نتواند مقدار دقیق بافرهای استاندارد را نشان دهد آلوده بودن غشای شیشه ای الکتروود می باشد لذا تمیز نگه داشتن این الکتروود بسیار حائز اهمیت می باشد.

برای تمیز کردن غشای شیشه ای الکتروود، در مرحله اول انتهای الکتروود را در محلول ۰,۱ مول اسید کلریدریک به مدت ۱۵ ثانیه قرار داده و سپس با آب مقطر شستشو می دهیم. در مرحله دوم الکتروود را در محلول ۰,۱ مول سود به مدت ۱۵ ثانیه قرار داده و سپس با آب مقطر شست و شو می دهیم.

این دو مرحله را چند بار تکرار نموده و PH بافرها را مجدد چک می نمائیم. چنانکه اشکال برطرف نشده باشد، اینبار نوک الکتروود را به مدت ۳۰ ثانیه در محلول ۲۰٪ بی فلوراید یا به مدت ۱۵ ثانیه در محلول ۱۰٪ هیدروفلوئوریک اسید قرار داده و بعد از شستشو نوک الکتروود را به مدت ۳۰ ثانیه در اسید کلرئدریک غلیظ گذاشته و مجدداً شستشو داده و در آخر الکتروود را به مدت ۱ ساعت در بافر با $PH=4$ قرار می دهیم، چنانچه هنوز عملکرد الکتروود قابل قبول نباشد الکتروود می بایست تعویض شود.

نگهداری الکتروود:

عملکرد صحیح دستگاه اندازه گیری PH بستگی به کاربرد درست الکتروود و نگهداری صحیح آن دارد.

۱- با توجه به اینکه الکتروود PH دارای غشای شیشه ای بسیار نازکی است که به راحتی شکسته می شود می بایست هنگام استفاده از آن دقت کنید که به این قسمت ضربه ای وارد نشود.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر
شماره سند:		صفحه: ۴ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: میکروبیشناسی

۲- برای خشک کردن الکتروود توسط دستمال کاغذی پس از پایان اندازه گیری و شستشو با آب مقطر باید به این نقطه توجه داشت که دستمال را نباید روی میله جستجوگر بکشید بلکه کافی است با دستمال آن را به آرامی لمس کنید.

۳- الکتروود جستجوگر را پس از استفاده در محلول با $PH=4$ بازگردانید و تا استفاده بعدی در این محلول نگه داری کنید. درپوش الکتروود جستجوگر معمولاً طوری طراحی شده است که می توان محلول $PH=4$ را در آن ریخته و سر الکتروود جستجوگر را در آن قرار داد.

کنترل کیفی PH متر:

PH سنج باید هر روز توسط بافرهای با $PH=4$ یا ۷ کالیبره شود. کالیبراسیون را می توان به صورت دونقطه ای یا سه نقطه ای انجام داد. محلول های بافر مورد استفاده باید دارای PH نزدیک به ماده مورد بررسی باشند. (بافر فسفات با $PH=7$ و بافر استات با $PH=4$).

برای کالیبراسیون دو نقطه ای PH متر ابتدا باید دمای محلول بافر را به دستگاه بدهیم، زیرا به علت تغییر غلظت با دما PH نیز تغییر می نماید. در برخی مدلها دما به صورت خودکار اندازه گیری می شود.

جزئیات پروسه کالیبراسیون بستگی به مدل PH متر دارد، ولی به طور کلی مراحل کالیبراسیون به این صورت می باشد که ابتدا الکتروود جستجوگر را در بافر با $PH=7$ قرار داده، ۲۵-۳۰ ثانیه زمان می دهیم تا اندازه گیر عدد ثابتی را نشان دهد. سپس اندازه گیر را روی عدد ۷ تنظیم کنید (تنظیم نقطه صفر). جستجوگر را با آب مقطر بشویید و آن را در محلول با (۴ یا ۱۰ PH) قرار دهید. اجازه دهید اندازه گیر عدد ثابتی را نشان دهد. مانند مرحله قبل اندازه گیر را روی PH مربوطه تنظیم نمایید. حالا PH متر شما کالیبره شده و آماده اندازه گیری PH محلول های مورد آزمایش میباشد.

قبل از قرار دادن اندازه گیر در محلول مورد آزمایش آن را دوباره با آب مقطر بشویید تا باقی مانده محلول $PH=4$ روی اندازه گیری PH محلول مورد آزمایش تاثیر نگذارد. محلول های بافر برای حداکثر ۲ ساعت قابلیت پایداری دارند. بنابراین از بافر های مانده نباید استفاده نمود.

PH مترهای مدرن اغلب به صورت اتوماتیک بافر را تشخیص و عملکرد لازم را انجام میدهند. بعد از انجام کالیبراسیون الکتروود را با آب مقطر شسته و درون آب مقطر نگهداری می کنیم و تا آخر آزمایش دستگاه را خاموش نمی کنیم.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر صفحه: ۵ از ۶
شماره سند:		بخش استقرار: میکروبیشناسی
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

تعیین عدم صحت PH سنج:

برای تعیین عدم صحت دستگاه از محلول هایی که دارای PH مشخص می باشند استفاده کرده و سپس توسط فرمول Bias% میزان عدم صحت را به دست می آوریم. عدم صحت مجاز PH متر ۱٪ می باشد.

تعیین عدم دقت سنج:

برای تعیین عدم دقت، PH محلول مورد آزمایش را ۱۰ بار در یک روز و در چند روز پیاپی اندازه گیری نموده و سپس میزان میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات آن را محاسبه می کنیم.

خطاهای احتمالی و عوامل مداخله گر:

۱- گاهی اوقات PH خوانده شده به شکل نوسانی است. اگر نوسانات ناچیز بود به کمک دکمه کالیبره عدد ۷ مربوط به وضعیت صفر دستگاه را تنظیم می کنیم.

۲- در صورت مواجه شدن با نوسانات بزرگتر که ممکن است در اثر اتصال نادرست کابل های دستگاه یا الکتروود بوجود آمده باشند، بررسی خطوط اتصال در الویت قرار دارد.

۳- به یاد داشته باشید که بافرهایی با PH بالا تمایل دارند تا CO₂ را جذب کنند که این امر موجب ایجاد خطای خوانش می شود. بنابراین عمل کالیبراسیون را در ظروف پلاستیکی و بلافاصله بعد از پر شدن لوله آزمایش توسط محلول بافر انجام دهید. علت استفاده از ظروف پلاستیکی این است که CO₂ از شیشه رد می شود و باعث تغییر PH می گردد.

۴- در صورتی که عبارت "wrong buffer" برروی صفحه نمایش ظاهر شد، از یک الکتروود جدید استفاده کنید، یا اینکه الکتروود قبلی را تمیز کرده و مجدداً مورد استفاده قرار دهید.

۵- اگر عبارت "wrong electrode" به نمایش درآمد، به این معنی است که الکتروود به خوبی متصل نشده است.

۶- اگر الکتروود کثیف یا با روغن و غیره مسدود شده باشد، دستگاه اندازه گیری نتیجه ای را نمایش خواهد داد که صحیح نیست. محلول های تمیز کننده ای برای رفع این مشکل وجود دارند. همچنین ابزارهای اندازه گیری نیز در بازار عرضه شده اند که می توانند. سن الکتروود و میزان رسوب آن را نمایش دهند.

۷- الکتروود شیشه ای هم نسبت به غلظت یون هیدروژن و هم نسبت به یون های فلزات قلیایی موجود در محلول بازی، پاسخ میدهند که این موضوع باعث ایجاد خطایی به نام خطای قلیایی می شود، بیشتر از همه این خطا در صورت وجود یون سدیم دیده

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل دستگاه PH متر صفحه: ۶ از ۶
شماره سند:		بخش استقرار: میکروبیشناسی
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

می شود. در این خطا، PH کمتر از مقدار واقعی نشان داده می شود زیرا PH نشان داده شده حاصل غلظت یون هیدروژن و یون های تک بار می باشد.

۸- یک خطای دیگر به نام خطای اسیدی هم وجود دارد که در PH کمتر از ۵,۰ رخ میدهد و در اثر آن، PH بیشتر خوانده میشود که البته علت آن کاملاً مشخص نیست.

نکات ایمنی حین استفاده PH متر:

۱- هنگام استفاده از PH سنج از دستکش آزمایشگاهی استفاده نمایید.

۲- در صورتی که با محلول های خطرناک کار می کنید استفاده از ابزارهای محافظتی دیگر مثل عینک مخصوص آزمایش و ماسک توصیه می شود.

۳- در صورتی که محلول را به صورت دستی هم می زنید و یا تکان می دهید باید دقت کنید که حرکت دست شما طوری صورت گیرد که باعث پاشیده شدن محلول روی لباس و یا به اطراف نشود. در صورتی که این اتفاق رخ داد به سرعت محل مورد نظر را بشویید.

۴- قبل از استفاده از هر ظرف و یا وسیله ای که با محلول مورد آزمایش در تماس خواهد بود از آلوده نبودن آن با ماده ای دیگر مطمئن شوید.

مراجع:

دستورالعمل های آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت

نام و امضاء تهیه کننده:	نام و امضاء تأییدکننده:	نام و امضاء تصویب کننده:
حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه	حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه علی حقی - مسئول آزمایشگاه مرجع بهداشت	