



بررسی اهمیت آزمایش‌های کامل و فراگیر در کنترل فرآیند با استفاده از طراحی آزمایش‌ها

سید محسن زمزمی

کارشناسی ارشد فرآوری مواد معدنی، دانشگاه صنعتی سهند تبریز

واحد کرمی

کارشناسی فرآوری مواد معدنی، دانشگاه علمی کاربردی مرکز مرند

مرضیه زاهدی

دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی صنایع، دانشگاه پیام نور، واحد تهران شمال

چکیده

انجام آزمایش‌های مهم در بخش صنعت و داروسازی و اعتبار نتایج آن مسیر تولید و استفاده از آن طرح آزمایشی را مشخص می‌کند. استفاده از روش طراحی آزمایش‌ها، موجب بررسی همه جانبه فاکتورها و پارامترها و همچنین تاثیرات عمده و متقابل بین فاکتورها می‌گردد. وجود تغییرات کوچک و نهان در سیمای مخفی آزمایش می‌تواند اعتبار آزمایش را از بین ببرد و بایستی این تغییرات در انجام آزمایش‌ها به خوبی شناسایی و مورد توجه قرار گیرند. روش‌های مختلف برای شناسایی اثرات مهم برآورد شده از طرح‌های تجربی، برای آزمایش‌های کامل و فراگیر توصیف شده‌اند. آزمایش‌های کامل و فراگیر و معتبرسازی آن قبل از انتقال یک مدل به آزمایشگاه‌های مختلف اعمال می‌شود. به ویژه برای روش‌های اصلی که به طور گسترده و رسمی مورد استفاده قرار می‌گیرند بسیار مهم است و خطاهای احتمالی در آزمایش‌های معتبرسازی شناسایی می‌گردند. از عوامل موثر در بروز خطا می‌توان به نوع دستگاه، اپراتور دستگاه، محیط آزمایشگاه، نوع مواد شیمیایی مورد استفاده و ... اشاره کرد. در این بررسی با توجه به مطالعات صورت گرفته قبلی، به اهمیت موضوع آزمایش‌های کامل و فراگیر پرداخته شده و مثالهای عملی و استفاده شده به اختصار تشریح شده است.

واژگان کلیدی: طراحی آزمایش‌ها، آزمایش‌های فراگیر، کنترل فرآیند



۱- مقدمه

در صنایع و کارخانجات روزانه آزمایش‌هایی جهت افزایش دانش و شناخت فرآیندهای مختلف موجود در آنها انجام می‌شود (Douglas, 1998). شناخت رفتار فرآیند، مقدار تغییرپذیری و تاثیر آن بر روی فرآیند برای بهبود پیوسته کیفیت محصول تولیدی ضروری می‌باشد. بطور دقیق‌تر یک آزمایش را می‌توان یک آزمون یا مجموعه‌ای از آزمون‌هایی تعریف کرد که بطور سازمان یافته و هدفمند برای بررسی تغییراتی که در متغیرهای ورودی یک فرآیند یا یک سیستم ایجاد می‌شود تا از این طریق امکان مشاهده و شناسایی تغییرات ممکن در پاسخ خروجی فراهم شود (Stavros, 2017).

مفهوم طراحی آزمایش واژه‌ی جدیدی نیست. ریشه آن به دهه ۱۹۲۰ و کار آماردان مشهور رونالد فیشر برمی‌گردد که سهم او در آمار به طور گسترده‌ای شناخته شده است (Hald, 1930). طراحی آماری آزمایش‌ها (DoE) تکنیکی است که می‌تواند برای کشف مؤثر روابط و توسعه درک بیشتر استفاده شود. بسیاری از کارهای اولیه با استفاده از DoE انجام شده و سپس به بخش‌های دیگر مانند صنعت داروسازی، فرآیندهای تولید پیوسته و گسسته، روش‌های سنجش زیستی، آزمایش‌های بالینی، آزمایش‌های روان‌شناختی، تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی و همچنین به عنوان مطالعات تجارت و اقتصاد گسترش یافت (Ryan, 2007) (Giesbrecht and Gumpertz, 2004). طراحی آزمایش‌ها مجموعه‌ای از تکنیک‌ها برای بهینه‌سازی طراحی محصول/فرآیند و عملیات فرآیند، و محدود کردن تأثیر عوامل خطا که غیر قابل کنترل است، می‌باشد. این تکنیک در تعیین مطلوب‌ترین روش طراحی محصول، بهترین ترکیب پارامتر فرآیند و موثرترین طرح جمع‌آوری داده‌ها بسیار مفید است (Pradeep and Kumar, 2020). طرح آزمایشی یک مجموعه آزمایشی است که امکان مطالعه همزمان تعدادی از عوامل در تعداد از پیش تعریف شده آزمایش را می‌دهد (Bieke and Heyden, 2007). باید توجه داشت که خطای موجود در آزمایش‌ها می‌تواند منجر به شرایط بهینه نادرست و در برخی موارد منجر به مخفی ماندن تاثیر پارامترهای عمده و اصلی شود (پورقهرمانی ۱۳۹۹). با توجه به الزامات نظارتی سختگیرانه، به ویژه در تجزیه و تحلیل دارویی، نتایج تجزیه و تحلیل با کیفیت قابل قبول باید گزارش شود. بنابراین، اعتبارسنجی مناسب روش اندازه‌گیری مورد نیاز است. در این زمینه، آزمایش‌های کامل و فراگیر به طور فزاینده‌ای اهمیت می‌یابد.

از کاربردهای اصلی طراحی آزمایش، در آزمایش کامل و فراگیر^۱ می‌باشد که معمولاً قبل از تولید محصول نهایی انجام می‌شود. در این مرحله چگونگی تنظیم عوامل و فاکتورها برای دقیق و اطمینان بخش بودن آزمایش نهایی صورت می‌گیرد. در این مرحله بررسی حساسیت پاسخ نهایی (محصول تولیدی) نسبت به تغییرات کوچک در پارامترها انجام می‌شود. زمانی تاثیر جزئی پارامترها بر روی پاسخ اصلی و نهایی بررسی و مشخص گردد تحت عنوان مرحله آزمایشی مطمئن و قوی شناخته می‌شود. آزمایش کامل و فراگیر، مجموعه آزمایشی است که برای ارزیابی قدرت مدل استفاده می‌شود. تست کامل و فراگیر روشی است که در مطالعات اعتبارسنجی روش‌های تحلیلی ارزیابی شده است که به عنوان ظرفیت یک روش تحلیلی برای تولید نتایج بی‌طرفانه در حضور تغییرات کوچک در شرایط تجربی تعریف شده است (Bosque et al, 1999). مفهوم دیگری تعریف می‌کند که آزمایش کامل، رفتار روش تحلیلی را مشخص می‌کند، زمانی که متغیرهای تجربی ذاتی فرآیند تحلیل کمی تغییر می‌کنند (Cuadros et al, 2005).

¹ Robustness testing



تعریف سوم پیشنهاد می‌کند که این پارامتر تحلیلی ظرفیت یک روش تحلیلی برای بی‌تأثیر ماندن از تغییرات کوچک اما عمداً معرفی شده در پارامترهای این روش است و نشانه‌ای از قابلیت اطمینان آن در طول استفاده عادی از روش را ارائه می‌دهد (Guideline, 2005). آزمایش کامل یک مدل تحلیلی عبارت از درجه تکرارپذیری نتایج آزمایش به دست آمده از تجزیه و تحلیل همان نمونه تحت انواع شرایط آزمایش عادی، مانند آزمایشگاه‌های مختلف، تحلیلگران مختلف، ابزارهای مختلف، تعداد زیادی از معرف‌ها، زمان‌های مختلف سنجش سپری شده، دمای سنجش مختلف، روزهای مختلف و غیره می‌باشد (Rockville, 2006). همچنین دستورالعمل ICH بیان می‌کند که یکی از پیامدهای ارزیابی آزمایش کامل و قدرتمند باید این باشد که یک سری پارامترهای مناسب بودن سیستم (مانند آزمایش‌های پاسخ سطح) ایجاد شود تا اطمینان حاصل شود که اعتبار روش تحلیلی هر زمان که استفاده می‌شود حفظ می‌شود (Candioti et al, 2014).

روش آزمایش کامل را می‌توان به عنوان توانایی بازتولید مدل (تحلیلی) در آزمایشگاه‌های مختلف یا تحت شرایط مختلف بدون بروز تفاوت‌های غیرمنتظره در نتایج به دست آمده و آزمایش قدرتمند را به عنوان یک مجموعه آزمایشی برای ارزیابی مدل آزمایش کامل در نظر گرفت (Vander Heyden et al, 2001). اتحادیه بین‌المللی شیمی محض و کاربردی (IUPAC) تعریف می‌کند که آزمایش فراگیر یک روش تحلیلی، مقاومت در برابر تغییر نتایج حاصل از یک روش تحلیلی است، زمانی که انحرافات جزئی از شرایط آزمایشی در روش و مدل شرح داده شده باشد (Thompson et al, 2002). آزمایش‌های کامل و فراگیر مهم هستند زیرا گاهی اوقات تحلیلگر نیاز به اصلاح یک یا چند پارامتر شیمیایی و یا ابزاری یک روش دارد و این تنها زمانی انجام می‌شود که این تغییرات با توجه به نتایج بهینه‌سازی شده قبلی بر دقت مدل تأثیری نداشته باشد (Sergio et al, 2017). مجموعه آزمایش فراگیر شرایط تکرارپذیری را شبیه‌سازی می‌کند. بنابراین، یک الزام این است که تکرارها در شرایط دقت متوسط اندازه‌گیری شوند و در شرایط تکرارپذیری اندازه‌گیری نشوند (Eurachem, 1995).

آزمایش فراگیر باید در طول توسعه یک روش تحلیلی انجام شود تا قابلیت اطمینان آن در زمانی که تغییرات کوچک در پارامترهای مدل رخ می‌دهد نشان داده شود، به عنوان مثال در شرایط عملیاتی برای روش‌های کروماتوگرافی، در ترکیب و pH فاز متحرک، سرعت جریان و دمای ستون. وقتی اندازه‌گیری‌ها تحت تأثیر این تغییرات عمده قرار می‌گیرند، باید اقدامات احتیاطی انجام شود تا اطمینان حاصل شود که روش تحلیلی در هنگام رعایت این اقدامات احتیاطی معتبر و قوی است (Dejaegher et al, 2006). آزمایش قدرتمند منابع بالقوه تغییرپذیری در یک یا تعدادی از پاسخ‌های روش را بررسی می‌کند. در مرحله اول، جنبه‌های کمی (تعیین محتوا، بازیابی) روش ارزیابی می‌شود. با این حال، علاوه بر این پاسخ‌ها، محدودیت‌های آزمایش تناسب سیستم (SST) را نیز می‌توان تعریف کرد (به عنوان مثال وضوح، فاکتورهای باطله، فاکتورهای ظرفیت، کارایی ستون در روش کروماتوگرافی) نیز قابل ارزیابی هستند. مراحل مختلف آزمایش کامل و فراگیر که هر کدام تشریح شده است.

الف) شناسایی عواملی که باید آزمایش شوند

ب) تعریف سطوح مختلف برای عوامل.

ج) انتخاب طرح آزمایشی.

د) تعریف پروتکل آزمایشی (تنظیم آزمایشی کامل).

ه) تعریف پاسخ‌هایی که باید تعیین شوند.

و) اجرای آزمایش‌ها و تعیین پاسخ‌های روش.

ز) محاسبه اثرات.



ح) تجزیه و تحلیل آماری و یا گرافیکی اثرات و

ن) نتیجه‌گیری از نظر شیمیایی مرتبط از تجزیه و تحلیل آماری و در صورت لزوم، اتخاذ تدابیری برای بهبود عملکرد روش. از نظر عملی، مطالعات آزمایش‌های کامل و فراگیر با توجه به اینکه در طول توسعه روش‌های تحلیلی، پاسخگوی ابهامات اپراتورها که تنها با تعیین این پارامترهای اعتبار مدل، می‌توان به آنها پاسخ داد، مورد نیاز است.

در تجزیه و تحلیل دارویی، اغلب به یک اعتبارسنجی روش فشرده نیاز است تا مقررات سختگیرانه تعیین شده توسط مقامات نظارتی رعایت شود. در این زمینه، امروزه آزمایش‌های کامل که بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، اهمیت فزاینده‌ای پیدا می‌کند. کنترل فاکتورهای اخیر در محدوده‌های خاص باید از بروز مشکلات در مطالعه بین آزمایشگاهی بعدی جلوگیری کند. طراحی کامل فاکتوریل دو سطحی کارآمدترین ابزار کمومتری برای ارزیابی آزمایش‌های فراگیر است.

طرح‌های فاکتوریل کامل دو سطحی برای ارزیابی آزمایش‌های مطمئن و قوی و روش‌های تحلیلی توصیه می‌شود. با این حال، برای راحتی عملیاتی، طرح‌های فاکتوریل کسری بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند که طرح‌های پلاکت برمن^۲، ماتریس دوهلری^۳ (Rodrigues et al, 2014)، (Heidarizadi and Tabaraki, 2016)، (Santos et al, 2016)، مرکب مرکزی (Di Carro et al, 2015)، (Benavides et al, 2014)، (Hashemi et al, 2015)، باکس بنکر^۴ (Wingert et al, 2015)، (Fattahi and Rahimi, 2016)، (Sayar et al, 2014)، و طرح‌های فاکتوریل سه سطح (Huffer et al, 2013)، (Rakic et al, 2014)، (D'Archivio et al, 2015)، (Souza et al, 2016) از پرکاربردترین طرح‌ها در ارزیابی آزمایش‌های فراگیر بوده است.

برای بررسی تعداد بیشتری از عوامل، برخی از طرح‌های غربالگری هنوز به آزمایش‌های نسبتاً زیادی نیاز دارند، به خصوص زمانی که باید به اندازه کافی تعامل ناچیز یا اثرات ساختگی برای تخمین خطا در دسترس باشد. از آنجایی که اغلب تمایل به کاهش زمان و هزینه در هنگام انجام آزمایش فراگیر و مطمئن است، اغلب طرح‌های حداقلی اعمال می‌شود که در آن عوامل (بیشتر) را می‌توان در آزمایش‌های کمتری بررسی کرد.

در حالت کلی عواملی که برای بررسی در آزمایش فراگیر و مطمئن انتخاب می‌شوند، عواملی هستند که به احتمال زیاد در هنگام تغییر بین آزمایشگاه‌ها، ابزارها یا تحلیلگران بر نتایج تحلیلی تأثیر می‌گذارند. با این حال، مطالعات فراگیر برای ارزیابی آسیب‌پذیری عوامل در روش‌های تحلیلی بهینه‌سازی شده با استفاده از ابزارهای همومتریک مورد نیاز است. مراحل توسعه یافته در یک مطالعه آزمایش کامل و فراگیر به شرح زیر می‌باشد:

۱-۱- انتخاب عوامل و سطوح آنها

در طول بهینه‌سازی یک روش تحلیلی، مقادیر بحرانی فاکتورها که به عنوان مقادیر اسمی نیز شناخته می‌شوند، عموماً با استفاده از مدل‌های درجه دوم (متغیرهای فرآیند) و مدل‌های درجه دوم یا مکعبی (طرح‌های مخلوط) به دست می‌آیند. از سوی دیگر، در آزمایش فراگیر روش‌های تحلیلی به طور کلی شامل طرح‌های آزمایشی سریع‌تر است و بیشتر آنها توسط مدل‌های خطی ایجاد می‌شوند.

۲-۱- انتخاب طرح تجربی ایده‌آل برای آزمایش کامل و فراگیر

² - Plackett-Burman

³ - Doehlert

⁴ - Box-Benken



چندین ابزار شیمی سنجی برای آزمایش فراگیر به کار گرفته شده است. بنابراین، طرح‌های فاکتوریل کامل و کسری دو سطحی، پلاکت برمن و طرح‌های دیگر، از جمله برخی روش‌شناسی سطح پاسخ، ممکن است در آزمایش‌های فراگیر و مطمئن مورد استفاده قرار گیرند. هر کدام از اینها مزایا و معایب خود را دارند. تعداد عوامل می‌تواند مستقیماً بر انتخاب طرح ایده‌آل تأثیر بگذارد. فول فاکتوریل دو سطحی دارای چندین مزیت است، اما اگر تعداد فاکتورها زیاد باشد، این طرح بسیار نامناسب است. طرح پلاکت برمن یکی از پرکاربردترین روش‌ها می‌باشد، زیرا امکان ارزیابی بسیاری از عوامل را با حداقل آزمایش و زمانی که پارامترها زیاد است را فراهم می‌کند.

هنگامی که تعداد فاکتورهای انتخابی از ۳ تجاوز می‌کند، طراحی سطح پاسخ غیرعملی می‌شود زیرا آزمایش‌های زیادی باید انجام شود (Vander Heyden et al, 1996)، (Mulholland et al, 1996). با این حال، در آزمایش فراگیر و مطمئن معمولاً بیش از سه عامل بررسی می‌شود. در نهایت، این طرح‌های سطح پاسخ به منظور مدل‌سازی پاسخ در بهینه‌سازی روش استفاده می‌شوند، جایی که فواصل مورد بررسی بسیار گسترده‌تر از آزمایش فراگیر و مطمئن هستند (Massart et al, 1997).

۱-۳- توسعه کار تجربی

پس از انتخاب طرح آزمایشی مناسب برای آزمایش مطمئن، آزمایش‌ها باید به صورت تصادفی انجام شود. گاهی اوقات به دلایل عملی، یک یا چند عامل بلوک می‌شوند، اما بقیه به صورت تصادفی در می‌آیند. موقعیت‌هایی که نیاز به آزمایش در بیش از یک روز دارند نیز قابل انجام هستند. در این موارد، آزمایش‌ها به صورت بلوکی انجام می‌شوند. در طول توسعه آزمایش‌ها، انجام آزمایش‌های تکراری در شرایطی که به عنوان مقادیر اسمی تعریف شده‌اند، مطلوب است. این تکرارها باید در ابتدا و در پایان آزمایش‌های قدرتمند انجام شوند، زیرا نتایج این آزمایش‌ها برای بررسی عملکرد در ابتدا و در پایان آزمایش‌ها استفاده می‌شود. همچنین از نتایج تکراری برای تعیین خطای آزمایشی استفاده می‌شود که برای برآورد اهمیت عوامل و تأثیر متقابل آنها استفاده می‌شود.

در مطالعات آزمایش فراگیر، یک یا چند پاسخ اندازه‌گیری می‌شوند. با این حال، اثرات عوامل و اثرات متقابل آنها تنها با در نظر گرفتن یک پاسخ محاسبه می‌شود. به این ترتیب، مطالعات شامل بیش از یک پاسخ با استفاده از یک تابع پاسخ چندگانه ایجاد می‌شود. استراتژی‌های مختلفی برای محاسبه یک پاسخ چندگانه وجود دارد (Derringer, R. Suich, 1980).

تعامل بین دو عامل زمانی رخ می‌دهد که تأثیر یک عامل به سطح عامل دیگر بستگی داشته باشد. این فعل و انفعالات معمولاً از یک رویکرد طراحی آزمایشی نیز در نظر گرفته نمی‌شوند، اما می‌توانند هنگام انتخاب یک طرح مناسب در نظر گرفته می‌شوند. در آزمایش اطمینان، اثرات متقابل اغلب ناچیز در نظر گرفته می‌شود، و معمولاً در عمل نیز وجود دارد.

ارزیابی چنین تعاملاتی در بهینه‌سازی روش مهم‌تر است، جایی که عوامل در بازه‌های بازه‌ای بسیار وسیع‌تر ارزیابی می‌شوند و بنابراین تعاملات می‌توانند بسیار مهم‌تر باشند. آنها را می‌توان به پارامترهای اندازه‌گیری، تحلیل عملیاتی، محیطی و پیک تقسیم کرد (Vander Heyden et al, 1998)، (Perrin et al, 2003).

۲- نتایج و بحث



در یک بررسی توسط راگونز و همکارانش، استفاده از طرح آزمایشی باکس بنکر را برای انجام آزمایش کامل و فراگیر و بهینه‌سازی عوامل موثر بر جداسازی اتامبوتول هیدروکلراید (EB)، ناخالصی آن ۲ آمینو بوتانول و استاندارد داخلی (فنیل‌افرین هیدروکلراید)^۵ در روش CE برای یک قرص دارویی توصیف می‌کند.

سنجش سه عامل مورد مطالعه به طور همزمان عبارتند از: pH بافر، غلظت بافر و میدان الکتریکی اعمال شده، که هر کدام در سه سطح مورد مطالعه قرار گرفته است. این روش با توجه به سه پاسخ وضوح بین پیک‌ها، تعداد صفحات نظری و زمان انتقال پیک EB بهینه شد. شرایط بهینه ایجاد بافر ۵۸/۰۰ میلی مولار سدیم بورات در pH ۹/۵ و میدان الکتریکی اعمالی V/cm ۴۱۲ بود (Ragonese et al, 2007).

برای اینکه یک روش تحلیلی قوی باشد، باید بتواند نشان دهد که علیرغم تغییرات کوچک در پارامترهای آزمایشی، که ممکن است در یک آزمایشگاه آزمایشی معمولی رخ دهد، بتواند نتایج کمی تولید کند. از این رو، از روش اتامبوتول (%LC) HCl به عنوان فاکتور پاسخ استفاده شد. جدول ۱ ضرایب رگرسیون و مقادیر احتمال مرتبط (P-value) را برای پاسخ سنجش اتامبوتول HCl (%LC) ارائه می‌دهد.

جدول ۱- ضرایب رگرسیون و مقادیر احتمال مرتبط (P-value) برای پاسخ سنجش اتامبوتول (%LC)

شرایط	ضریب	P- value
ثابت	۱۱۲/۱۵۷	۰/۰۰۰
pH	۰/۹۳۳	۰/۳۹۴
بافر	۱/۷۷۴	۰/۱۳۶
ولتاژ	-۰/۱۰۲	۰/۹۲۳
pH×pH	-۰/۲۶۲	۰/۸۰۴
بافر×بافر	۰/۵۴۲	۰/۶۱۱
ولتاژ×ولتاژ	-۰/۸۱۴	۰/۴۵۳
pH×pH	۰/۸۹۵	۰/۴۱۲
pH×ولتاژ	۰/۱۵۷	۰/۸۸۲
ولتاژ×بافر	۰/۷۷۷	۰/۴۷۲

همانطور که از مقادیر مشاهده می‌شود، هیچ پارامتر آماری معنی‌داری بر پاسخ %LC تأثیرگذار نبود، زیرا تمام مقادیر P ۰/۰۵ بودند. همین امر در مورد اصطلاحات درجه دوم نیز صادق است.

از این رو هیچ اثر متقابل قابل توجهی در آزمایش وجود نداشت. این نتایج نشان داد که روش تحلیلی قوی می‌باشد، زیرا تغییرات اعمال شده به پارامترهای تجربی هیچ اثر آماری معنی‌داری بر روی روش اتامبوتول (%LC) HCl ایجاد نکرد. یک روش CE برای تجزیه و تحلیل اتامبوتول HCl و ناخالصی آن ۲ آمینو بوتانول، در یک فرمول قرص، برای جداسازی تمام پیک‌ها در ۴ دقیقه بهینه شد و برای مطابقت با الزامات قانونی موجود تأیید شد. این مدل منجر به بهبود روش USP موجود شد و مزایای بالقوه‌ای را برای آزمایشگاه‌های تجاری که تعداد زیادی از نمونه‌ها را آزمایش می‌کنند، ارائه کرد (Ragonese et al, 2002).

⁵ phenylephrine hydrochloride



در یک مطالعه توسط (Bloomfield and Butler, 2000) در خصوص استفاده از طراحی تجربی برای آزمایش کامل یک جریان از طریق روش انحلال برای اتواکون، یکی از مواد دارویی در فرمولاسیون قرص ضد مالاریا دوگانه، قرص‌های مالارون، شرح داده شده است. این روش برای غلبه بر کاهش حلالیت اتواکون، ناشی از حضور پروگوانیل هیدروکلراید همراه با دارو و عدم دقت احتمالی ناشی از حلالیت ضعیف مواد پوشش در محیط انحلال پایه مورد استفاده، توسعه داده شد. برای این آزمایش، یک طرح فاکتوریل دو سطحی ربع کسری، ارزیابی شش عامل در شانزده آزمایش، با شش نقطه مرکزی دیگر برای ارزیابی تغییرات تجربی طبیعی اعمال شد. نتایج نشان می‌دهد که این روش نسبت به تغییرات کوچک در تمام عوامل اصلی ارزیابی شده در زمان‌های نمونه ۳۰ دقیقه یا بیشتر مقاوم است. در ۱۵ دقیقه، تغییرات در غلظت هیدروکسید سدیم در محیط انحلال، سرعت پمپ پرستالتیک و سرعت جریان از نظر آماری معنی‌دار ارزیابی شد. این مشاهدات نتیجه شیب اولیه منحنی انتشار انحلال است و از این رو این عوامل در حال حاضر به طور معمول در روش مورد استفاده کنترل می‌شوند. انتشار این داروی کم محلول در نقطه زمانی ۴۵ دقیقه طبق دستورالعمل‌های داروسازی محدود است. این رویکرد ممکن است برای سایر روش‌های انحلال نیز اعمال شود. آنها دریافتند که روش انحلال جریان از این طریق ممکن است برای تغییرات در تمام پارامترهای اصلی ارزیابی شده در زمان‌های نمونه ۳۰ دقیقه و بالاتر قوی در نظر گرفته شود. در ۱۵ دقیقه، غلظت هیدروکسید سدیم در محیط انحلال، سرعت پمپ پرستالتیک و سرعت جریان از نظر آماری معنی‌دار ارزیابی شد.

مطالعات (K. D. Altria and Filbey, 1994) در خصوص طرح‌های تجربی در ارزیابی روش الکتروفورز مویرگی برای تعیین ناخالصی‌های مربوط به دارو تشریح شد. در ابتدا یک طرح غربالگری فاکتوریل کسری برای شناسایی پارامترهای حیاتی که pH و ولتاژ یافت شدند استفاده شد. سپس یک طرح مرکب مرکزی برای ارزیابی سطوح پاسخ برای pH و ولتاژ انجام شد که عملکرد را در مقادیر pH و ولتاژ بهینه نشان داد. آزمایش کامل و فراگیر را می‌توان به عنوان حساسیت یک روش به تغییرات کوچک در پارامترهای روش تعریف کرد. معمولاً آزمایش اطمینان شامل اندازه‌گیری پاسخی مانند وضوح دو جزء هنگام تغییر هر یک از تنظیمات روش است. در این مطالعه روش‌های طراحی آزمایشی مانند پلاکت برمن و ORM در CE برای توسعه و بهینه‌سازی روش به کار گرفته شده‌اند. آزمایش کامل و فراگیر روش CE با استفاده از رویکردهای طراحی شده انجام شده است. این ترکیب قلیایی است و به خوبی از ناخالصی‌های آن با استفاده از فورز مویرگی محلول آزاد با استفاده از یک بافر فسفات با pH پایین جدا می‌شود. حساسیت آن در روش CE عموماً ضعیف‌تر از معادل HPLC آن با محدودیت کمی حدود ۰/۱٪ است. پارامترهای ارزیابی شده در طول آزمایش اطمینان یک روش CE شامل غلظت الکترولیت، طول موج آشکارساز، دما، سازنده دستگاه CE و زمان تزریق نمونه است. برخی از این پارامترها در ابتدا با استفاده از طرح فاکتوریل کسری برای شناسایی روش بحرانی غربال شدند. در آزمایش غربالگری هر دو پارامتر pH و ولتاژ به عنوان پارامترهای بحرانی شناسایی شدند. این دو عامل با استفاده از طرح مرکب مرکزی مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه‌گیری‌های سطح پاسخ به دست آمده از آزمایش‌های طراحی کامپوزیت مرکزی، عملکرد را در تنظیمات pH و ولتاژ بهینه که شرایط سازگار بودند، تأیید کرد. از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که استفاده صحیح از طرح‌های تجربی مناسب در ارزیابی صحت و معتبر بودن روش‌های CE مناسب است.



یک طرح فاکتوریل نامتقارن در تست اطمینان برای روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا فاز معکوس (RP-HPLC) برای تریادیمنول در محصولات فنی استفاده شد. رویکردهای مختلف برای تصمیم‌گیری در مورد اهمیت اثرات برآورد شده به کار گرفته شد و با یکدیگر مقایسه شد (Hund et al, 2000). شرایط کروماتوگرافی اسمی شامل شش عامل مرتبط با مدل انتخابی است که ممکن است بر نتایج روش تأثیر بگذارد شامل: دمای ستون، سرعت جریان فاز متحرک، قدرت یونی بافر فسفات (با توجه به غلظت $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)، pH بافر فسفات، نسبت بافر فسفات و استونیتریل در فاز متحرک و طول موج آشکارساز که در جدول ۲ سطوح انتخاب شده برای بررسی این عوامل را نشان می‌دهد.

از چهار پاسخ در نظر گرفته شده مشخص نیست که کدام اثر بحرانی ترجیح داده می‌شود. نتایج، اظهارات لنث را تأیید کرد که اثراتی که از SME فراتر می‌روند به وضوح قابل توجه هستند در حالی که آنهایی که کمتر از ME هستند به وضوح غیر قابل توجه هستند. این نظر را می‌توان به SME مطابق با Dong و ME طبق نیجویس و همکارانش تعمیم داد.

از آنجایی که ادغام، منجر به اثرات بحرانی بسیار کوچک از آزمایش‌های اسمی می‌شود، گسترش نتیجه‌گیری برای MEs تا این حد چندان واضح نیست. در هر صورت به نظر می‌رسد که ترکیب چنین روشی با نمودار نیمه نرمال برای تصمیم‌گیری در مورد اهمیت تأثیرات در آزمون اطمینان مطلوب باشد. علاوه بر این، از آنجایی که تعداد کمی از پاسخ‌های در نظر گرفته شده اجازه نمی‌دهد تصمیم بگیریم که کدام حد قابل اعتمادتر است، مطالعه گسترده این سه الگوریتم توصیه می‌شود.

جدول ۲- عوامل تأثیر گذار و سطوح انتخاب شده

فاکتور	شرح	سطح			
		۲-	۱-	۱	۲
A	اجزای ستون	Merck -1	Grom	MN Nominal	Bischoff
B	دمای ستون	۳۶ درجه سانتی گراد		۴۰ درجه سانتی گراد	۴۴ درجه سانتی گراد
C	نرخ جریان	۱/۴ میلی لیتر در دقیقه		۱/۵ میلی لیتر در دقیقه	۱/۶ میلی لیتر در دقیقه
D	غلظت فسفات	۱/۴ گرم بر لیتر		۱/۵ گرم بر لیتر	۱/۶ گرم بر لیتر
E	pH شوینده های A	۲/۸		۳/۰	۳/۲
F	نسبت شوینده A:B	۵۸:۴۲		۵۵:۴۵	۵۲:۴۸
G	طول موج	۲۲۸nm		۲۳۰nm	۲۳۲nm

مطالعات جین سنوزیده‌های (R_d و R_c , R_{g2} , R_{b1} , R_f , R_e , R_{g1}) موجود در جینسنگ آسیایی و آمریکایی، با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) صادر شده توسط فارماکوپه ایالات متحده توسط یانگ ژتولی و همکارانش در مورد سنجش قرار گرفتند (Yong-Guo Li, Hong Liu et al, 2005). هفت عامل با طرح فاکتوریل کسری انتخاب و بررسی می‌شوند. دوازده پاسخ، شامل موارد مربوط به کمیت، مانند بازیابی R_{b1} و R_{g1} ، و موارد کیفی، مانند وضوح (R_s)، شماره تئوری صفحات (N)، زمان ماند نسبی (RRT)، اندازه‌گیری می‌شوند. اثرات محاسبه شده هم به صورت گرافیکی و هم از نظر آماری برای شناسایی عوامل مهم تفسیر می‌شوند. تست‌های اطمینان و فراگیر با استفاده از طرح فاکتوریل کسری در سنجش جین‌سنوزیده‌ها، رویکردی مؤثر به‌عنوان بخشی از اعتبارسنجی روش بر روی داروهای گیاهی ارائه کردند.

نتایج نشان داد که وضوح جین‌سنوزیده‌های R_{g1}/R_e و R_{b1} با نزدیک‌ترین پیک مجاور، پارامترهای حیاتی برای تناسب سیستم هستند. به عنوان یک تحقیق بیشتر، یک آزمایش اطمینان، که معیاری از ظرفیت روش برای بی‌تأثیر ماندن تغییرات کوچک اما عمدی در پارامترهای روش است و نشانه‌ای از قابلیت اطمینان آن در طول استفاده عادی ارائه می‌کند، برای رسیدگی به محدودیت‌های روش مورد نیاز است.



جدول ۳- طراحی فاکتوریل کسری دو سطحی برای هفت عامل که به هشت آزمایش نیاز دارند

شماره آزمایش	سطح فاکتورها						
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱
۲	+۱	+۱	-۱	-۱	+۱	-۱	-۱
۳	+۱	-۱	+۱	+۱	-۱	-۱	-۱
۴	+۱	-۱	-۱	-۱	-۱	+۱	+۱
۵	-۱	+۱	+۱	-۱	-۱	+۱	-۱
۶	-۱	+۱	-۱	+۱	-۱	-۱	+۱
۷	-۱	-۱	+۱	-۱	+۱	-۱	+۱
۸	-۱	-۱	-۱	+۱	+۱	+۱	-۱
شرایط آزمایش							
	اجزای استونیتریل	دمای ستون درجه سانتی گراد	آشکار ساز طول موج	شروع B (%)	اتمام B (%)	زمان تعادل دقیقه	نرخ جریان ملی لیتر /دقیقه
۱	Merck	۳۵	۲۰۵	۲۰	۴۵	۱۲	۱/۱
۲	Merck	۳۵	۲۰۱	۱۶	۴۵	۸	۰/۹
۳	Merck	۲۵	۲۰۵	۲۰	۳۵	۸	۰/۹
۴	Merck	۲۵	۲۰۱	۱۶	۳۵	۱۲	۱/۱
۵	YHA	۳۵	۲۰۵	۱۶	۳۵	۱۲	۰/۹
۶	YHA	۳۵	۲۰۱	۲۰	۳۵	۸	۱/۱
۷	YHA	۲۵	۲۰۵	۱۶	۴۵	۸	۱/۱
۸	YHA	۲۵	۲۰۱	۲۰	۴۵	۱۲	۰/۹

هدف از آزمایش اطمینان، بررسی اینکه آیا عملکرد کروماتوگرافی تحت تاثیر تغییرات جزئی در شرایط عملیاتی قرار می‌گیرد یا خیر، و همچنین ارائه شواهدی مبنی بر اینکه با توجه به تغییرات کوچک سیستم همچنان الزامات مناسب بودن سیستم را برآورده می‌کند، می‌باشد. دو طرح غربالگری، طرح فاکتوریل کسری و طرح پلاکت برمن، عمدتاً برای این هدف تحقیق استفاده می‌شوند. طرح اعمال شده یک طرح فاکتوریل کسری اشباع با هشت آزمایش برای هفت عامل است که در جدول ۳ نشان داده شده است. سطرهای جدول ۳ نشان دهنده هشت آزمایش مختلف و هر ستون نشان دهنده عامل متفاوتی است. همه آزمایش‌ها در دو نسخه انجام شد و میانگین دو نتیجه گزارش شده است. به دلیل وجود چند جزئی در محصولات طبیعی، روش‌های سنجش گیاهان دارویی اغلب پیچیده است. نتایج نشان می‌دهد که پارامترهای تناسب سیستم تعریف شده در حال حاضر همیشه برای نشان دادن مناسب بودن روش کافی نیستند. شرایط آزمایشی با گزینش پذیری متفاوت و یک تخمین احتمالاً مغرضانه از محتویات برخی ترکیبات می‌تواند معیارهای تناسب سیستم موجود را پاس کند.

۳- نتیجه‌گیری



با توجه به مطالعات صورت گرفته در خصوص آزمایش‌های کامل و فراگیر می‌توان به نتایج زیر دست یافت:

- هدف از آزمایش اطمینان، بررسی اینکه آیا عملکرد مدل تحت تاثیر تغییرات جزئی در شرایط عملیاتی قرار می‌گیرد یا خیر، و همچنین ارائه شواهدی مبنی بر اینکه با توجه به تغییرات کوچک سیستم همچنان الزامات مناسب بودن سیستم را برآورده می‌کند، می‌باشد.

- طرح‌های فاکتوریل کامل دو سطحی برای ارزیابی آزمایش‌های مطمئن و قوی و روش‌های تحلیلی توصیه می‌شود. با این حال، برای تسریع عملیات، طرح‌های فاکتوریل کسری بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند که طرح‌های پلاکت برمن، ماتریس دهلری، مرکب مرکزی، باکس بنکرو طرح‌های فاکتوریل سه سطحی از پرکاربردترین طرح‌ها در ارزیابی آزمایش‌های فراگیر بوده است.

- در تجزیه و تحلیل آزمایش‌ها، اغلب به یک اعتبارسنجی روش فشرده نیاز است تا مقررات سختگیرانه تعیین شده توسط مقامات نظارتی رعایت شود. در این زمینه، امروزه آزمایش‌های کامل که بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، اهمیت فزاینده‌ای پیدا می‌کند. از آنجایی که اغلب تمایل به کاهش زمان و هزینه در هنگام انجام آزمایش فراگیر و مطمئن است، اغلب طرح‌های حداقلی اعمال می‌شود که در آن اکثر عوامل را می‌توان در آزمایش‌های کمتری بررسی کرد.

۴- منابع

پورقهرمانی پرویز، جزوه درس طراحی آزمایش‌ها، دانشگاه صنعتی سهند ۱۳۹۹

Douglas, C. Montgomery, *Design and Analysis of Experiment*, John Wiley & Sons, 1991.

Stavros N. Politis. *Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2017, 1520-5762.

A. Hald, *A History of Mathematical Statistics from 1750 to 1930*, (Wiley Series in Probability and Statistics) 1st Edition

T.P. Ryan, *Modern Experimental Design*, John Wiley and Sons, New Jersey, 2007.

F.G. Giesbrecht, M.L. Gumpertz, *Planning, Construction, and Statistical Analysis of Comparative Experiments*, John Wiley and Sons, New Jersey, 2004.

M. Pradeep Kumar, K. Vikram Kumar, V. Kumar. *A Review Response Surface Methodology* International Journal for Scientific Research & Development| Vol. 8, Issue 7, 2020. 558-565

Bieke Dejaegher, Yvan Vander Heyden. *Ruggedness and robustness testing*, Review. Journal of Chromatography A, 1158 (2007) 138–157

J.M. Bosque-Sendra, M. Nechar, L.C. Rodriguez, *Decision protocol for checking robustness with previous outlier detection in the validation of analytical methods*, Fresenius J. Anal. Chem. 365 (1999) 480–488.

L. Cuadros-Rodriguez, R. Romero, J.M. Bosque-Sendra, *The role of the robustness/ ruggedness and inertia studies in research and development of analytical processes*, Crit. Rev. Anal. Chem. 35 (2005) 57–69.



ICH, Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R1), 2005.

United States Pharmacopoeia, 29th ed., National Formulary, 24th ed., United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD, USA, 2006

L.V. Candioti, M.M. De Zan, M.S. Camara, H.C. Goicoechea, *Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development*, Talanta 124 (2014) 123–138.

Y. Vander Heyden, A. Nijhuis, J. Smeyers-Verbeke, B.G.M. Vandeginste, D.L. Massart. *Guidance for robustness: ruggedness tests in method validation*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 24 (2001) 723–753

M. Thompson, S.L.R. Ellison, R. Wood, *Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis* - (IUPAC technical report), Pure Appl. Chem. 74 (2002) 835–855.

Sergio L.C. Ferreira, Adriana O. Caires, Thaise da S. Borges, Ariana M.D.S. Lima, Laiana O.B. Silva, Walter N.L. dos Santos. *Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs*. Microchemical Journal 131 (2017) 163–169

Eurachem, *A focus for Analytical chemistry in Europe, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Berlin, 1st ed., 1995

B. Dejaegher, X. Capron, J. Smeyers-Verbeke, and Y. Vander Heyden. *Randomization tests to identify significant effects in experimental designs for robustness testing*. Analytica Chimica Acta 564 (2006) 184–200

K.L.T. Rodrigues, A.L. Sanson, A.D. Quaresma, R.D. Gomes, G.A. da Silva, R. Afonso, *Chemometric approach to optimize the operational parameters of ESI for the determination of contaminants of emerging concern in aqueous matrices by LC-IT-TOFHRMS*, Microchem. J. 117 (2014) 242–249.

E. Heidarizadi, R. Tabaraki, *Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations*, Talanta 148 (2016) 237–246.

L. dos Santos, Q.O. dos Santos, I. Moreno, C.G. Novaes, M.J.S. dos Santos, M.A. Bezerra, *Multivariate optimization of a simultaneous cloud point extraction procedure of Cd, Cu and Ni from sediments samples and determination by ICP OES*, J. Braz. Chem. Soc. 27 (2016) 745–752.

M. Di Carro, F. Ardini, E. Magi, *Multivariate optimization of headspace solidphase microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for the determination of methylpyrazines in cocoa liquors*, Microchem. J. 121 (2015) 172–177.

A.M.H. Benavides, P.J. Martin-Alvarez, L. Vazquez, G. Reglero, F.J. Senorans, E. Ibanez, *Optimization of countercurrent supercritical fluid extraction of minor components from olive oil*, Curr. Anal. Chem. 10 (2014) 78–85.



B. Hashemi, M. Shamsipur, A. Barati, *Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop with central composite design for the determination of nitrophenols using high performance liquid chromatography*, J. Braz. Chem. Soc. 26 (2015) 2046–2053.

N.R. Wingert, M.A.G. Nunes, A.T. Barden, P. Gomes, E.I. Muller, E.M.M. Flores, M. Steppe, *Ultra performance LC-ESI/Q-TOF MS for the rapid analysis of rivaroxaban: method validation using experimental design for robustness evaluation*, Curr. Anal. Chem. 11 (2015) 124–129.

M. Fattahi, R. Rahimi, *Optimization of extraction parameters of phenolic antioxidants from leaves of capparispinosa using response surface methodology*, Food

Anal. Methods 9 (2016) 2321–2334.

O. Sayar, F. Aboufazel, H. Zhad, O. Sadeghi, M. Karimi, E. Najafi, *Optimization of solid-phase extraction by experimental design methodology for determination of lead ions using graphene modified nano-sheets as a novel sorbent*, Curr. Anal. Chem. 10 (2014) 512–521.

T. Huffer, X.L. Osorio, M.A. Jochmann, B. Schilling, T.C. Schmidt, *Multi-walled carbon nanotubes as sorptive material for solventless in-tube microextraction (ITEX2)-a factorial design study*, Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013) 8387–8395.

T. Rakic, I. Kasagic-Vujanovic, M. Jovanovic, B. Jancic-Stojanovic, D. Ivanovic, *Comparison of full factorial design, central composite design, and Box-Behnken design in chromatographic method development for the determination of fluconazole and its impurities*, Anal. Lett. 47 (2014) 1334–1347.

A.A. D'Archivio, M.A. Maggi, C. Marinelli, F. Ruggieri, F. Stecca, *Optimisation of temperature-programmed gas chromatographic separation of organochloride pesticides by response surface methodology*, J. Chromatogr. A 1423 (2015)

149–157.

S.O. Souza, D.V.L. Avila, A.S.C. Monteiro, C.A.B. Garcia, J.P.H. Alves, T.A. Maranhao, R.G.O. Araujo, *Simultaneous determination of thorium and uranium in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, J. Braz. Chem. Soc. 27 (2016) 799–806.

Y. Vander Heyden, D.L. Massart, in: M.W.B. Hendriks, J.H. de Boer, A.K. Smilde (Eds.), *Robustness of Analytical Chemical Methods and Pharmaceutical Technological Products*, Elsevier, Amsterdam, 1996, p. 79.

M. Mulholland, in: M.W.B. Hendriks, J.H. de Boer, A.K. Smilde (Eds.), *Robustness of Analytical Chemical Methods and Pharmaceutical Technological Products*, Elsevier, Amsterdam, 1996, p. 191.

D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*, Elsevier, Amsterdam, 1997, p. 124, 379, 643, 788



G. Derringer, R. Suich, Simultaneous-optimization of several response variables, J. Qual. Technol. 12 (1980) 214–219.

Y. Vander Heyden, F. Questier, D.L. Massart, J. Pharm. Biomed. Anal. 18 (1998) 43.

C. Perrin, H. Fabre, D.L. Massart, Y. Vander Heyden, Electrophoresis 24 (2003) 2469.

R. Ragonese, M. Macka, J. Hughes, P. Petocz. *The use of the Box–Behnken experimental design in the optimisation and robustness testing of a capillary electrophoresis method for the analysis of ethambutol hydrochloride in a pharmaceutical formulation.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 27 (2002) 995–1007

M.S. Bloomfield, W.C. Butler. Robustness testing, using experimental design, of a flow-through dissolution method for a product where the actives have markedly differing solubility properties. International Journal of Pharmaceutics 206 (2000) 55–61

K. D. Altria, S. D. Filbey. *The Application of Experimental Design to the Robustness Testing of a Method for the Determination of Drug-Related*

Impurities by Capillary Electrophoresis. Chromatographia Vol. 39, No. 5/6, September 1994.

E. Hund, Y. Vander Heyden a, M. Haustein b, D.L. Massart a, J. Smeyers-Verbeke. *Comparison of several criteria to decide on the significance of effects in a Robustness test with an asymmetrical factorial design.* Analytica Chimica Acta 404 (2000) 257–271

Yong-Guo Li, Hong Liu, Y. Vander Heyden, Ming Chena, Zheng-Tao Wang, Zhi-Bi Hua. *Robustness tests on the United States Pharmacopoeia XXVI HPLC assay for ginsenosides in Asian and American ginseng using an experimental design.* Analytica Chimica Acta 536 (2005) 29–38



Examining the importance of robustness testing in process control using design of experiments

S.M. Zamzami*

MSc mineral processing, Sahand University of
Technology, Tabriz

V.Karami

BSc mineral processing University of Applied
Sciences & Technology, Marand

M. Zahedi

MSc industrial engineering Payame noor university, Tehran-shomal

Abstract

Conducting important tests in the industry and pharmaceutical sector and the validity of those results determines the production path and use of that test plan. The use of the method of design of experiments leads to comprehensive examination of factors and parameters as well as major and mutual effects between factors. The presence of small and hidden changes in the hidden face of the test can destroy the validity of the test, and these changes should be well identified and taken into account in conducting the tests. Different methods for identifying significant effects estimated from experimental designs are described for robustness testing. Robustness testing and its validation are applied before transferring a model to different laboratories. It is especially important for the main methods that are widely and officially used, and possible errors are identified in the validation tests. Among the effective factors in the occurrence of errors, we can mention the type of device, the device operator, the laboratory environment, the type of chemical substances used, etc. In this review, according to the previous studies, the importance of Robustness testing has been discussed and the practical and used examples have been briefly described

Keywords: Experiment design, Robustness testing, Process control