١٢٨٤٢٤

دانشگاه پیام نور

**پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد**

در رشته شیمی تجزیه دانشکده علوم

گروه شیمی

عنوان پایان نامه:

# اندازه گیری همزمان اسپکتروفوتومتری اسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به روش کمترین مربعات جزیی در نمونه های زیستی

استاد راهنما:

**دکتر حبیب الله خواجه شریفی**

استاد مشاور:

**دکتر حسین توللی**

نگارش:

**سولماز سروی**

۱۳۸۸/۱۰/۷

تیر ماه ۱۳۸۸

۱۲۸۴۶۲

باسمه تعالی

## تصویب پایان نامه / رساله

پایان نامه تحت عنوان:

**اندازه گیری همزمان اسپکتروفوتومتری آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به روش کمترین مربعات جزیی در نمونه های زیستی**

که توسط **سولماز سروی** در مرکز **شیراز** تهیه و به هیات داوران ارائه گردیده است مورد تایید می باشد.

تاریخ دفاع: ۱۳۸۸/۴/۱۸ نمره: ۱۸/۸۰ درجه ارزشیابی: عالی

اعضای هیئت داوران:

| نام و نام خانوادگی | هیات داوران | مرتبه علمی | امضا |
|---|---|---|---|
| ۱- دکتر حبیب الله خواجه شریفی | استاد راهنما | استادیار | |
| ۲- دکتر حسین توللی | استاد مشاور | دانشیار | |
| ۳- دکتر جهانبخش قاسمی | استاد داور | استاد | |
| ۴- دکتر احمد رضوی زاده | نماینده تحصیلات تکمیلی | استادیار | |

**تقدیم به:**

***آستان جانان دوست***

***که هستی من از زلال روان هستی اوست***

***سپاسگزار همچون استادی هستم که اندیشیدن را به من آموخت نه اندیشه ها را:***

*حکایتی از دانستن و یاد دادن، بدان گونه که عزیزانی بزرگ و گرانقدر هر چه را که در کف داشتند در طبقی مملو از اخلاص و ایثار، و با فداکاری بخشیدند آن چه را که از جنس علم بود و مهربانی، و مرا زبانی و کلامی ماند قاصر از تشکر و قدردانی از ارجمند بزرگوارانی که یاریم دادند، باشد که گوشه ای از تعاملات این عزیزان به شرح گونه ای ذیلا ادا نمایم:*

*به استاد بزرگوار و ارزنده ام جناب آقای **"دکتر حبیب الله خواجه شریفی"** که در مقام راهنمایی و ارشاد، صادقانه و خالصانه سختی این ایام را با مساعدت خویش بر من مقرون به سهولت نمود و از این بابت بسیار سپاسگزار و خرسندم، قطعا اندوخته های این زمان دستمایه ادامه راه، و بزرگواری ایشان همیشه در ذهن و خاطر من باقی خواهد ماند.*

*تشکر وافر از جناب آقای **"دکتر حسین توللی"**، بدلیل مشاوره بی بدیل خود که دستیابی به آن چه را که مورد لزوم بود امکان پذیر و طی طریق را آسان تر نمود.*

*بدیهی است همه آن چه گفته شد به انتها نمی رسید مگر آن که در نقد و داوری در بوته آزمایش کار آزموده ای ارجمند و بزرگوار، همچون جناب آقای **"پروفسور جهانبخش قاسمی"** قرار گرفته شود و نهایت به دوست عزیز و مهربانم سرکار خانم **"معصومه صادقی"** که مرا در این راه بسیار کمک نمود و این مساعدت او به یادگار خواهد ماند تا جایی و زمانی که جبران مافات برایم میسر گردد.*

***و هزاران بار سپاس از دو محراب دلم، از دو عبادتگاه جانم "مادر و پدر عزیزم"***

***آنان که وجودشان برایم عشق است و وجودم برایشان همه رنج***

***آنان که مویشان سپید شد تا روسپید بمانم.***

## چکیده

روش های کمومتریکس نظیر کمترین مربعات جزئی و رگرسیون جزء اصلی از جمله روش های کاملا طیفی و تجزیه عاملی بر اساس روش های کالیبراسیون چند متغیره هستند که امکان تعیین همزمان چندین آنالیت را علی رغم همپوشانی فراهم می کنند. با این روش ها به راحتی می توان به مدلی که متناسب با دامنه غلظتی مخلوط ها در دامنه کالیبراسیون باشد، دست یافت. در این تحقیق روش اسپکتروفوتومتری با استفاده از حداقل مربعات جزئی جهت تعیین همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به کار برده شد. اگرچه جهت طراحی مجموعه کالیبراسیون بر اساس طیف های جذبی در محدوده ۳۲۰-۲۵۰ نانومتر برای ۳٦ محلول، هم از کمترین مربعات جزئی و هم از رگرسیون جزء اصلی استفاده شد، در تمام حالت ها روش کمترین مربعات جزئی توانایی پیشگویی کمی به مراتب بهتری نسبت به رگرسیون جزء اصلی نشان داد. دامنه خطی برای آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به ترتیب ٤٧/٥٥-١/٧٦، ١١٣/٧٨-٢٨/٤٤ و ٢٨/٥٨-١/٦٨ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. جهت تعیین تعداد بهینه اجزاء اصلی، از روش ارزیابی متقاطع استفاده گردید. تعداد مؤلفه های اصلی برای آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به ترتیب با روش کمترین مربعات جزئی، ٤، ٤ و ٤ و با رگرسیون جزء اصلی ٥، ١٢ و ٨ به دست آمد. مجموع مربعات خطای پیشگویی برای آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید به ترتیب با روش کمترین مربعات جزئی،١/٨٩٦٩،٤٩/٨٨٨٩ و ٣/٨٤٦٨ و با روش رگرسیون جزء اصلی،١٢/٥٢٠٨، ٢٩/٤٤٢١ و ٥/٨٣٧٨ حاصل شد. روش پیشنهادی با نتایج رضایت بخشی جهت تعیین همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در نمونه های سرم و پلاسمای خون و ادرار انسان همراه بود.

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه

## فصل اول: مقدمه وتئوری


۱-۱- مقدمه ..... ۱
۱-۱-۱- کمومتریکس ..... ۱
۱-۱-۲- تجزیه پذیری عاملی ..... ۴
۱-۱-۲-۱- تجزیه عاملی ..... ۶
۱-۱-۲-۲- مرتبه ماتریس ..... ۶
۱-۱-۳- مراحل کالیبراسیون و پیشگویی ..... ۷
۱-۱-۴- طراحی مخلوط ..... ۷
۱-۱-۵- کالیبراسیون چند متغیره ..... ۸
۱-۱-۵-۱- علامت ها و اصطلاحات ..... ۸
۱-۱-۵-۲- انواع کالیبراسیون ..... ۹
۱-۱-۵-۲-۱- کالیبراسیون تک متغیره در مقابل کالیبراسیون چند متغیره ..... ۹
۱-۱-۵-۲-۲- کالیبراسیون مستقیم و غیر مستقیم ..... ۹
۱-۱-۵-۲-۳- کالیبراسیون کنترل شده و طبیعی ..... ۱۰
۱-۱-۵-۳- مدل ها و روش ها ..... ۱۱
۱-۱-۵-۴- معرفی انواع روش ها ..... ۱۳
۱-۱-۵-۴-۱- کمترین مربعات کلاسیک (CLS) ..... ۱۳
۱-۱-۵-۴-۲- روش کمترین مربعات معکوس (ILS) ..... ۱۵
۱-۱-۵-۴-۳- رگرسیون چند متغیره خطی (MLR) ..... ۱۶
۱-۱-۵-۴-۴- روش تجزیه مؤلفه های اصلی (PCA) ..... ۱۸
۱-۱-۵-۴-۵- رگرسیون مؤلفه های اصلی (PCR) ..... ۱۹
۱-۱-۵-۴-۶- رگرسیون کمترین مربعات جزئی (PLSR) ..... ۲۰
۱-۱-۵-۴-۷- تعداد مؤلفه ها (عامل ها) ..... ۲۱
۱-۱-۶- ارقام شایستگی ..... ۲۲

۱-۲- تئوری روش های به کار گرفته شده ..... ۲۴
۱-۲-۱- مقدمه ..... ۲۴
۱-۲-۲- رگرسیون جزء اصلی (PCR) ..... ۲۴
۱-۲-۳- کمترین مربعات جزئی (PLS) ..... ۲۷
۱-۲-۴- نتیجه گیری ..... ۳۰
۱-۲-۵- منابع مختلف خطاهای پیشگویی ..... ۳۲
۱-۳- اندازه گیری همزمان اسپکتروفوتومتری آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ..... ۳۲
۱-۳-۱- مقدمه ..... ۳۲
۱-۳-۱-۱- آسکوربیک اسید ..... ۳۳
۱-۳-۱-۲- دوپامین ..... ۳۴
۱-۳-۱-۳- اوریک اسید ..... ۳۶
۱-۳-۲- مروری بر تاریخچه اندازه گیری آسکوربیک اسید(AA)، دوپامین (DA) و اوریک اسید (UA) ..... ۳۹

## فصل دوم: بخش تجربی

۲-۱- مقدمه ..... ۴۶
۲-۲- مواد شیمیایی ..... ۴۶
۲-۳- دستگاهوری ..... ۴۷
۲-۴- تشکیل مجموعه های کالیبراسیون و پیشگویی ..... ۴۷
۲-۵- آماده سازی نمونه های سرم و پلاسمای خون ..... ۴۸
۲-۶- آماده سازی نمونه ادرار ..... ۴۹

## فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

۳-۱- اندازه گیری همزمان مخلوط های سه تایی آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ..... ۵۰
۳-۱-۱- رفتار طیفی آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ..... ۵۰
۳-۱-۲- کالیبراسیون تک متغیره ..... ۵۱
۳-۱-۳- کالیبراسیون چند متغیره ..... ۵۱
۳-۱-۳-۱- انتخاب عوامل بهینه ..... ۵۲

۳-۱-۳-۲- اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در مخلوط های سنتزی ..... ۵۳
۳-۱-۳-۳- اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در نمونه های حقیقی ..... ۵۳
۳-۱-۴- نتیجه گیری ..... ۵۴
**مراجع** ..... ۶۷

## فهرست شکل ها

**عنوان ..... صفحه**


شکل ۱-۱- نمودار طراحی مخلوط برای سیستم سه جزئی ..... ۸

شکل ۱-۲ کالیبراسیون غیر مستقیم ..... ۱۰

شکل ۱-۳ طرح گرافیکی معادلات MLR ..... ۱۸

شکل ۱-۴- طرح گرافیکی PCR ..... ۱۹

شکل ۱-۵- طرح گرافیکی مدل PLSR ..... ۲۱

شکل ۱-۶- ساختار آسکوربیک اسید (ویتامین C) ..... ۳۸

شکل ۱-۷- ساختار دوپامین ..... ۳۸

شکل ۱-۸- ساختار اوریک اسید ..... ۳۸

شکل۳-۱- طیف های جذبی محلول های مخلوط های سه تایی آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در pH=۷/۰ ..... ۵۵

شکل۳-۲- طیف های جذبی آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در pH=۷/۰ ..... ۵۵

شکل ۳-۳- منحنی های کالیبراسیون تک متغیره جذب بر حسب غلظت الف) آسکوربیک اسید، ب) دوپامین و ج) اوریک اسید ..... ۵۶

شکل ۳-۴- نمودار مقادیر PRESS بر حسب تعداد عوامل برای الف) آسکوربیک اسید، ب) دوپامین و ج) اوریک اسید برای PLS1 و PCR ..... ۵۷

شکل ۳-۵- نمودار غلظت پیشگویی بر حسب غلظت واقعی با استفاده از مدل PLS1 برای مجموعه کالیبراسیون، الف) آسکوربیک اسید، ب) دوپامین و ج) اوریک اسید ..... ۵۸

شکل ۳-۶- نمودار غلظت پیشگویی بر حسب غلظت واقعی با استفاده از مدل PLS1 برای مجموعه پیشگویی الف) آسکوربیک اسید، ب) دوپامین و ج) اوریک اسید ..... ۵۹

شکل ۳-۷- نمودار غلظت افزوده شده و غلظت پیشگویی شده در سرم، پلاسما و ادرار بر حسب تعداد آزمایش برای آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ..... ۶۰

## فهرست جدول ها

**عنوان ..... صفحه**


جدول ۱-۱- داده های جذبی UV (مثال) ..... ۵

جدول ۱-۲- مروری بر مقایسه نتایج حاصل از PLS و PCR در مقالات مختلف ..... ۳۱

جدول ۳-۱- پارامتر های بدست آمده برای منحنی کالیبراسیون ..... ۶۱

جدول ۳-۲- داده های غلظتی استاندارد های متفاوت در مجموعه کالیبراسیون در مخلوط سه جزئی ..... ۶۲

جدول ۳-۳- نتایج حاصل از اندازه گیری مخلوط های سه تایی مجموعه پیشگویی برای PLS1 و PCR ..... ۶۳

جدول ۳-۴- پارامترهای آماری بدست آمده با استفاده از مدل PLS1 و PCR برای مجموعه پیشگویی ..... ۶۴

جدول ۳-۵- مقادیر بدست آمده برای تعیین همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید در نمونه های حقیقی برای PLS1 ..... ۶۵

جدول ۳-۶- مقایسه روش های مختلف در اندازه گیری مخلوط سه تایی آسکوربیک اسید، دوپامین و اوریک اسید ..... ۶۶

# فصل اول: مقدمه و تئوری

## ۱-۱- مقدمه

### ۱-۱-۱- کمومتریکس[1]

کمومتریکس یا شیمی سنجی در حقیقت کاربرد علوم آمار، کامپیوتر و ریاضی در شیمی می باشد که می توان آن را هنر پردازش داده ها توسط تکنیک های مختلف جهت درک بهتر اطلاعات شیمیایی نیز تعریف کرد. کاربرد روشهای ریاضی در شیمی سابقه دیرین دارد ولی با توجه به پیشرفت علوم کامپیوتر و کاربرد آن در علوم، روشهای کمومتریکس در دو دهه اخیر پیشرفت بسیار داشته است. در این دو دهه روشهای کمومتریکس مختلفی توسط شیمی دان ها با کمک متخصصین علوم کامپیوتر، ریاضی و آمار ارائه شده است. در واقع با استفاده از آنالیز داده های شیمیایی بدست آمده، اطلاعات

[1] Chemometrics

مفیدی استخراج می شود که با توجه به این اطلاعات می توان آزمایش های مورد نظر را با بازدهی بهتر طراحی کرد. می توان این طور بیان کرد که داده های ما علاوه بر اطلاعات مفید، حاوی مزاحمت هایی نیز هست که تکنیک های کمومتریکس می توانند در جهت حذف این مزاحمت ها، استخراج حداکثر اطلاعات مفید از داده ها و ایجاد شرایطی برای بهترین پیشگویی در مورد نمونه ها کمک بسیار کنند [۱]. تکنیک های کمومتریکس جهت تجزیه طیفی داده های اسپکتروسکوپی بویژه در مرحله کالیبراسیون کاربرد فراوان دارند. اندازه گیری های طیفی اغلب یکی از روش های انتخابی جهت تجزیه کمی و کیفی مخلوط های شیمیایی به شمار می روند، البته در اغلب موارد دست یابی به نتایج سودمند و تعیین مقادیر مخلوط های چند جزئی بدون جداسازی اولیه به دلیل همپوشانی واکنش های طیفی با مشکل روبه رو می شود. همچنین شناسایی اجزای مخلوط به دلیل شباهت های طیفی نیز مشکلاتی ایجاد می کند. کاربرد تکنیک های کمومتریکس بر مشکلات فوق غلبه کرده است [۲]. بخش قابل توجهی از کار های کمومتریکس مربوط به فرایند های شیمی تجزیه است که هدف اصلی در آن ها، اغلب محاسبه کمی غلظت شیمیایی مخلوط ها با کمک اندازه گیری های فیزیکو شیمیایی است [۳]. تاریخچه کارهای اولیه کمومتریکس به سال های ۱۹۶۹ و سال های اول دهه ۷۰ بر می گردد. در این سال ها، کوالسکی[1]، جرز[2]، آیزنهور[3] و ریلی[4]، مجموعه مقالاتی بر روی کاربرد خطی یادگیری ماشینی در طبقه بندی طیف های جرمی با تفکیک کم ارائه دادند [٦-٤]. به علت اینکه در آن زمان کارها حالت کلاسیک داشتند و رایانه ها در محاسبات خود از تقریب استفاده می کردند، این علم چندان توسط شیمی دانان مورد توجه قرار نگرفت. در اواخر دهه ٦٠ و اوایل دهه ۷۰، شیمی دانان به طور

[1] Kowalski
[2] Jurs
[3] Isenhour
[4] Reilly

جدی بحث های این علم را دنبال کردند و این مصادف با زمانی بود که تجزیه کلاسیک رفته رفته جای خود را به تجزیه دستگاهی می داد و دستگاه های جمع آوری خودکار اطلاعات و رایانه های نسل جدید که دقیق تر از سابق کار می کردند، به کار گرفته شدند [۷-۳].

خلاصه ای از کار های اولیه با اهمیت کمتر در قبل از این دوره از سال ۱۹۰۸ تا سال ۱۹۷٦ توسط گلادی[1] و اسبنسن[2] جمع آوری شده است [۸].

برای اولین بار نام کمومتریکس توسط دانشمند جوان سوئدی به نام ولد[3] برای این علم انتخاب گردید، همکاری وی با کوالسکی سبب تشکیل انجمن بین المللی کمومتریکس[4] (ICS)، در سال ۱۹۷٤ شد. تشکیل انجمن و انتشار خبر نامه کمومتریکس، دو عامل موفق در معرفی کمومتریکس در ابتدای کار بودند. هرش[5] کار های این دوره را جمع آوری کرده است [۳]. ICS، کمومتریکس را این چنین تعریف می کند [۹]:

"کمومتریکس روش های ریاضی، آماری، گرافیکی یا نمادین برای بهبود فهم اطلاعات شیمیایی است."

[1] Geladi
[2] Esbensen
[3] Wold
[4] International Chemometrics Society
[5] Hirsch

## ۱-۱-۲- تجزیه پذیری عاملی[1]:

تجزیه عاملی یک ابزار ریاضی[2] جهت بررسی محدوده وسیعی از مجموعه داده ها به شمار می رود که کاربرد های گسترده ای در علوم مختلف از جمله شیمی[3]، جامعه شناسی[4]، اقتصاد[5] و روان شناسی[6] دارد. مبحث اصلی در تجزیه عاملی، آنالیز فضای عاملی[7] یا فضای داده[8] هاست. تجزیه عاملی نیازمند ماتریسی از مجموعه داده ها می باشد که بر اساس اصطلاحات کاربردی توسط مالینوسکی[9] و هاوری[10] [۷]، ردیف منتخب[11] و ستون منتخب[12] به ردیف و ستون ماتریس اشاره دارد. علت این نام گذاری آنالیز محدوده وسیعی از انواع ماتریس داده ها توسط تجزیه عاملی است. شرط اساسی برای تجزیه پذیر بودن عامل ها، دو سویه[13] بودن داده هاست، بدین معنی که ردیف ها و ستون های ماتریسی کاملا از هم مستقل[14] باشند. به عنوان مثال برای تجزیه عاملی داده های جذبی UV، طبق جدول (۱-۱) طول موج ها به عنوان ردیف منتخب و محلول ها به عنوان ستون منتخب، انتخاب می شوند.

---

[1] Factor Analyzability
[2] Mathemathical Tool
[3] Chemistry
[4] Sociology
[5] Economics
[6] Psychology
[7] Factor Space
[8] Data Space
[9] Malinowski
[10] Howry
[11] Row Designee
[12] Column Designee
[13] Bi- Linear
[14] Independent

جدول ۱-۱- داده های جذبی UV [۱۰]

| Wavelength (nm) | Sol.1 | Sol.2 | Sol.3 | Sol.4 | Sol.5 | Sol.6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۲۱۵ | ۰/۰۹۹۷ | ۰/۰۱۹۱ | ۰/۱۱۸۹ | ۰/۱۹۵۵ | ۰/۳۱۸۳ | ۰/۲۵۶۷ |
| ۲۲۰ | ۰/۳۱۲۸ | ۰/۱۱۲٤ | ۰/٤۲۵۲ | ۰/۸۷٤۹ | ۱/۰۵۰۸ | ۰/۹٦۲۷ |
| ۲۲۵ | ۰/۲۸۹۲ | ۰/۱۰۹٦ | ۰/۳۹۸۸ | ۰/۸۳۷۱ | ۰/۹۷۷۲ | ۰/۹۰۷۳ |

در این حالت، ستون ها شامل داده های مربوط به هر محلول و ردیف ها شامل طول موج ها می باشد. اگر که غلظت های نمونه از قانون بیر[1] پیروی کنند، مقادیر جذب داده های اجزای جدول صحیح هستند. طبق معادله (۱-۱) داده های اجزا، حاصل جمع جذب های هر جزء در محلول (ستون) و طول موج هایی که با ردیف نشان داده شده است، می باشند.

$$A_{jk} = \sum_{i=1}^{n} \varepsilon_{ji} b C_{ik} \qquad (۱-۱)$$

که در این معادله $A_{jk}$ جذب اندازه گیری شده در $j$ امین ردیف و $i$ امین ستون، $n$ تعداد اجزا و $\varepsilon_{ji}$ جذب مولی برای $i$ امین جزء در $j$ امین طول موج، $b$ طول سل $(cm)$ و $C_{ik}$ غلظت $i$ امین جزء در $k$ امین محلول $(molL^{-1})$ می باشد. خاصیت جمع پذیری خطی برای تجزیه عاملی از اهمیت بسیاری برخوردار است که در معادله (۱-۲) نشان داده شده است.

$$d_{jk} = \sum_{i=1}^{n} f_{ji}^{r} f_{ik}^{c} \qquad (۱-۲)$$

$d_{jk}$ داده نهایی برای ردیف $j$ ام و ستون $k$ ام در ماتریس داده ها، $n$ تعداد بخش های مربوط به هر داده اصلی، $f_i^r$ تابع[2] ردیف منتخب و $f_{ji}^r$ مقدار این تابع برای ردیف $j$ ام ماتریس، $f_i^c$ تابع ستون منتخب

[1] Beer Law
[2] Function

و $f_{ik}^{c}$ مقدار این تابع برای ستون k ام ماتریس می باشد. با مقایسه معادله (۱-۱) و (۱-۲)، مشاهده می شود که برای داده های جذب UV، $f_i^r$ همان جذب مولی ($\varepsilon$) جزء $i$ ام و $f_i^c$ همان غلظت مولی ($C$) برای جزء $i$ ام می باشد. برای داده های جذبی UV، گونه های جاذب همان عامل ها هستند که با توابع یکسانند. البته در مورد سایر داده ها ممکن است عامل ها متفاوت از متغیر[۱] ها باشند [۱۰].

**۱-۱-۲-۱- تجزیه عاملی (FA)[۲]**

روش تجزیه مؤلفه های اصلی[۳] (PCA)، یک تکنیک تجزیه ای ویژه[۴] است که مجموعه ای از بردار های ویژه[۵] با مقادیر مشخصه[۶] را طی یک برنامه پله ای[۷] استخراج می کند. اولین بردار ویژه برای بالاترین مقدار واریانس در داده ها جدا می شود. بعد از جدایی هر بردار ویژه، بقیه داده های ماتریسی محاسبه می شوند و همچنان این مرحله تکرار می شود تا تمام بردار های ویژه حذف شوند. واریانس هر بردار ویژه توسط مقدار مشخصه اش محاسبه می شود که برابر است با مربع مقدار مشخصه هر بردار. بررسی مقادیر مشخصه و بزرگی آن ها امکان تخمین تعداد عامل ها یا تعداد اجزای ماتریس را فراهم می کند [۱۰]

**۱-۱-۲-۲- مرتبه[۸] ماتریس**

---

[1] Variable
[2] Factor Analysis
[3] Principal Component Analysis
[4] Eigenanalysis Technique
[5] Eigenvectors
[6] Eigenvalues
[7] Stepwise Procedure
[8] Rank

یکی از مهمترین اطلاعاتی که توسط تجزیه عاملی حاصل می شود، تعداد اجزای مرتبط با واریانس است که مرتبه ماتریس نامیده می شود. عموما هر چه تعداد نویزهای[1] مرتبط با واریانس که نتیجه عامل های حقیقی کوچکتر است، بیشتر باشد، تعیین مرتبه ماتریس مشکل تر است [۱۰].

## ۱-۱-۳- مراحل کالیبراسیون و پیشگویی

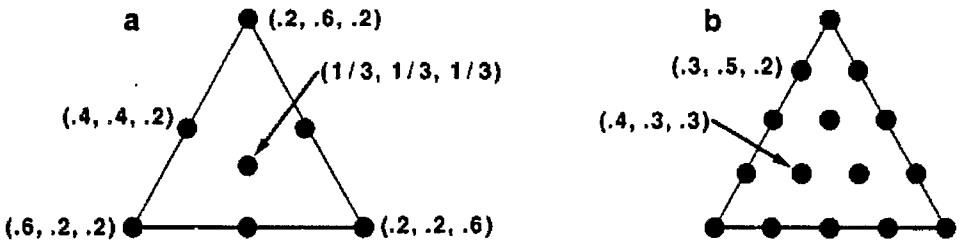
تجزیه شیمیایی معمولا از دو مرحله تشکیل شده است، مرحله اول که ویژگی های روش و دستگاه ها مورد بررسی قرار می گیرند و تلاش می شود که مدلی متناسب با عملکرد آن ها ساخته شود. مدل رابطه بین دو گروه از متغیر ها مانند $\mathbf{Y}=f(\mathbf{X})$ که در آن ، $\mathbf{Y}$ متغیر های وابسته و $\mathbf{X}$ متغیر های مستقل نامیده می شود. این مرحله را مرحله کالیبراسیون یا مرحله آموزش می نامند. به مجموعه داده هایی که جهت این مرحله استفاده می شود، مجموعه کالیبراسیون یا مجموعه آموزش گفته می شود و پارامتر های مدل، ضرائب رگرسیون یا حساسیت ها نامیده می شوند. مرحله دوم، مرحله ایست که طی آن متغیر های مستقل برای یک یا چند نمونه مجهول اندازه گیری می شوند. در این مرحله از حساسیت های بدست آمده در مرحله کالیبراسیون استفاده می شود. این مرحله را مرحله پیشگویی یا امتحان می گویند و مجموعه داده های مورد استفاده، مجموعه پیشگویی یا امتحان نامیده می شود [۱۱].

## ۱-۱-۴- طراحی مخلوط

طراحی های مخلوط مختلفی وجود دارند که کارایی آن ها با هم متفاوت است. یکی از این طرح های ارائه شده طراحی مخلوط سه جزئی است که از مدل مثلث استفاده می شود. شکل (۱-۱)، طراحی مخلوط برای یک سیستم سه جزئی (۱a هفت نمونه، ۱b پانزده نمونه) را نشان می دهد [۱۳

[1] Noise

۱۲،]. در این تحقیق نیز از طراحی مخلوط سه جزئی، برای کالیبراسیون غلظت های افزوده شده مخلوط های مختلف استفاده گردید که برای تعداد ۳۶ غلظت مختلف از مخلوط سه جزئی، طراحی شد.




شکل ۱-۱- نمودار طراحی مخلوط برای سیستم سه جزئی [۱۲]

## ۱-۱-۵- کالیبراسیون چند متغیره[1]

روش های کالیبراسیون چند متغیره، روش هایی هستند که توسط آن ها امکان انجام تجزیه های کمی دقیق حتی در نمونه های بیولوژیکی[2] وجود دارد. با کاربرد این روش ها، اکثر خطاها شناسایی شده و این امر میزان اطمینان را افزایش می دهد.

### ۱-۱-۵-۱- علامت ها[3] و اصطلاحات[4]

اگر تعیین اسپکتروفوتومتری غلظت های گونه های شیمیایی را در نظر بگیریم، فرض می کنیم که غلظت گونه های شیمیایی، بردار $c = (c_1, c_2, ..., c_q)$ از بردار $x = (x_1, x_2, ..., x_p)$ که همان متغیر های واکنشی دستگاه[5] هستند، پیش بینی می شود. متغیرهای واکنشی دستگاه با $k = 1, 2, ..., p$ و گونه های شیمیایی با $j = 1, 2, ..., q$ نمایش داده می شوند. با این علائم، می توان بیان داشت که کالیبراسیون

[1] Multivariate Calibration
[2] Biological
[3] Notation
[4] Terminology
[5] Instrument Response Variables

ساختاری است برای پیشگویی $c$ بر اساس $x$ یعنی بدست آوردن یک فرمول ریاضی با استفاده از اندازه گیری مقادیر $x_k$ و محاسبه مقادیر $c_j$ به عنوان خروجی معادله [۱٤].

## ۱-۱-۵-۲- انواع کالیبراسیون

### ۱-۱-۵-۲-۱- کالیبراسیون تک متغیره[1] در مقابل کالیبراسیون چند متغیره

عموما یک فرد تنها از یک روش اندازه گیری خاص (به عنوان مثال جذب نور در یک طول موج انتخابی) جهت تعیین گونه های ارائه شده، یعنی یک $x_k$ برای پیشگویی یک $c_j$، استفاده می کند. این نوع پیشگویی تک متغیره ممکن است مفید باشد، اما مستلزم این فرض است که روش، یک روش اختصاصی و انتخابگر است، بدین معنی که برای غلظت های یکسان $c_j$، سیگنال های یکسانی $(x_k)$ ارائه می دهد و سایر اجزا هیچ گونه تداخلی ندارند. این شرایط همیشه برقرار نبوده مگر این که نمونه کاملا خالص و مقاوم باشد، البته تداخل سایر اجزا می تواند بر اندازه گیری ها اثر گذاشته و پیشگویی تک متغیره مناسبی ارائه نشود. اما کالیبراسیون چند متغیره با استفاده از ریاضیات امکان حذف تداخلات و خطاها را از نمونه های مجهول فراهم ساخته است [۱٤].

### ۱-۱-۵-۲-۲- کالیبراسیون مستقیم[2] و غیر مستقیم[3]

در بسیاری از کاربرد ها رابطه بین $x$ و $c$ کاملا مشخص است، به عنوان مثال، برای مخلوط های شیمیایی معلوم حاوی تنها چند جزء، اغلب می توان فرض کرد که اندازه گیری های انجام شده توسط دستگاه، به صورت تابع خطی از غلظت $c$ می باشد (مدل بیر) بدین معنی که $c \approx cK$. در بسیاری از حالت ها واحد های طیفی مربوطه (ردیف ها در $K = k_{ik}$ ) معلوم هستند یا این که می توانند مستقیما

[1] Univariate Calibration
[2] Direct Calibration
[3] Indirect Calibration