

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری  
دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه  
گاوزنگ - زنجان



# آنالیز چند متغیره‌ی مخلوط‌ها در سیستم‌های شیمیایی فاقد گزینش‌پذیری طیفی بر اساس روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

اکرم رستمی

استاد راهنما: دکتر حمید عبداللهی

شهریور ۱۳۸۸

וְעַתָּה  
שִׁמְרוּ  
וְחַטֹּאתֵיכֶם  
וְחַטֹּאתֵיכֶם

**تقدیم به حضرت دوست و حضرت دوست‌ترین  
دوستانم بر زمین :**

پیرم و مادرم

## قدردانی و تشکر

اگر خدایی نباشد باید او را اختراع کرد اما تمامی طبیعت  
فریاد بر می آورد که خدایی هست.

ولتر

برخودم لازم می دانم که ابتدا از استاد راهنمای عزیزم آقای دکتر عبداللهی به پاس تمام چیزهای  
زیبایی که از ایشان آموختم کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

از پدر و مادر عزیزم به خاطر تمامی محبت‌ها و حمایت‌هایشان در طول زندگی، بی نهایت  
سپاسگزارم و همچنین از خواهر و برادرهای عزیزم که حضورشان در تمام دوران زندگی ما به  
دلگرمی من بوده تشکر می کنم.

از اساتید گروه تجزیه که از محضرشان استفاده کردم از جمله آقای دکتر کمپانی، آقای دکتر حقیقی،  
آقای دکتر آیت‌اللهی، آقای دکتر رفیعی و همچنین از آقای دکتر کاظمی و خانم دکتر زینلی که  
زحمت داوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر را دارم.

از دوست و استاد عزیزم خانم دکتر نظری به خاطر تمام محبت‌هایشان در طی این سه سال ممنونم.  
شاید حافظه‌ام را مجال تشکر و قدردانی از تک تک دوستان دوست داشتنی و به یادماندنی در این  
مرکز نباشد پس با تعظیمی کوچک در برابر آنچه که از زیبایی در وجود تک تک دوستان در این  
سه سال برایم قابل درک بود از همه آنها سپاسگزارم و زیباترین آرزوها را برایشان آرزو مندم.

## چکیده

### بخش اول

## آنالیز چندمتغیره‌ی مخلوط‌ها در سیستم‌های شیمیایی فاقد گزینش‌پذیری طیفی بر اساس روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر (IDA)

در روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر، یک شناساگر به صورت کاملاً برگشت‌پذیر با گیرنده پیوند می‌دهد. سپس یک آنالیت رقابتی به محیط افزوده می‌شود که این سبب جایگزینی شناساگر پیوندشده با میزبان می‌شود، این جایگزینی سبب تغییر سیگنال نوری شناساگر شده و از این تغییرات به منظور شناسایی آنالیت استفاده می‌گردد. آنچه در روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر مورد نیاز است این است که تمایل بین شناساگر و گیرنده باید قابل مقایسه با تمایل بین آنالیت و گیرنده باشد.

در آنالیز مخلوط‌های شیمیایی نیاز به گزینش‌پذیری طیفی اجتناب‌ناپذیر است. یعنی تنها گونه‌هایی که یا خود یا محصولات حاصل از تعادل شیمیایی آنها دارای تفاوت در شکل طیف هستند، قابل اندازه‌گیری همزمان می‌باشند. در روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر تفاوت در ثابت‌های تعادل گونه‌های رقیب تحت شرایط مختلف باعث می‌گردد، داده‌های اسپکترسکوپی ایجاد گردد که اندازه‌گیری همزمان در سیستم‌های فاقد گزینش‌پذیری طیفی میسر شود. در این مطالعه با استفاده از روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر، اندازه‌گیری همزمان روی و کادمیم در نمونه‌های سنتزی بر اساس برهمکنش رقابتی آنها با لیگاند سدیم دو دوسیل سولفات، ۴-۲-پیریدیل آزو)رزور سینول (PAR) (به منظور تشکیل کمپلکس) تحت شرایط مختلف، و با به‌کارگیری روش کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی و شبکه عصبی تابع پایه شعاعی با موفقیت انجام شد.

## بخش دوم

### به کارگیری سیستم رگرسیون چندتایی (MRS) در آنالیز مخلوط‌ها برای داده‌های بدون گزینش‌پذیری طیفی

داده‌های اسپکتروفتومتری اغلب حجیم و شامل تعداد زیادی متغیر می‌باشند. همه این متغیرها حاوی اطلاعات مفید و قابل استخراج نمی‌باشند. در اکثر موارد بین متغیرهای موجود یک وابستگی خطی وجود دارد؛ یعنی برخی از متغیرها، ترکیب خطی از متغیرهای دیگر (مستقل) می‌باشند و این خود منبع مشکل برای به کارگیری تعداد زیادی از روش‌های آماری رگرسیون، مانند رگرسیون خطی چندتایی می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که وجود ارتباط خطی بین متغیرها سبب نامطلوب شدن نتایج پیش‌بینی می‌گردد. کارهای زیادی به منظور برخورد با این مشکل انجام شده است که معمول‌ترین آن‌ها کاهش ابعاد داده ماتریس، با استفاده از روش انتخاب متغیر می‌باشد؛ که شامل فشرده کردن فضای داده ماتریس اصلی در یک شبه فضای کوچکتر است.

در این مطالعه از روش سیستم رگرسیون چندتایی در اندازه‌گیری همزمان مخلوط‌های شیمیایی فاقد گزینش‌پذیری طیفی با استفاده از روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر استفاده شده است.

در روش سیستم رگرسیون چندتایی از کل اطلاعات طیفی موجود در فضای داده ماتریس اصلی استفاده می‌شود. روش ذکر شده به منظور، اندازه‌گیری هم‌زمان روی و کادمیم در نمونه‌های سنتزی بر اساس برهمکنش رقابتی آن‌ها با لیگاند PAR (به منظور تشکیل کمپلکس) تحت شرایط مختلف با موفقیت مورد استفاده قرار گرفت.

صفحه

فهرست

IV

فهرست شکل‌ها

VI

فهرست جدول‌ها

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱

فصل اول

۱

مقدمه

۱

۱. ۱ مقدمه‌ای بر روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر

۲

۱. ۱. ۱ سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر

۳

۱. ۲ آنالیز مخلوط‌های شیمیایی در سیستم‌های تعادلی

۳

۱. ۳ کمبود مرتبه

۴

۱. ۴ روش‌های کالیبراسیون چند متغیره

۴

۱. ۴. ۱ روش حداقل مربعات جزئی

۹

۱. ۴. ۲ شبکه‌های عصبی مصنوعی

۹

۱. ۴. ۲. ۱ ساختار شبکه

۱۱

۱. ۴. ۲. ۲ وزن‌ها

۱۱

۱. ۴. ۲. ۳ توابع انتقال

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴ انواع شبکه‌ها بر مبنای روش یادگیری

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴. ۱ آموزش نظارتی

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴. ۲ آموزش بدون نظارت

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴. ۵ انواع شبکه‌های عصبی بر اساس تعداد لایه‌ها

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴. ۵. ۱ شبکه‌های عصبی تک لایه‌ای

۱۲

۱. ۴. ۲. ۴. ۵. ۲ شبکه‌های عصبی چند لایه‌ای

۱۲	۱.۴.۲.۵.۲.۱ شبکه‌های عصبی پس‌انتشار (BPNN)
۱۴	۱.۴.۲.۵.۲.۲ شبکه‌های عصبی تابع پایه شعاعی (RBFNN)
۱۴	۱.۴.۲.۶ شبکه‌های عصبی مصنوعی در کالیبراسیون چند متغیره
۱۴	۱.۴.۲.۷ تقسیم بندی داده‌ها
۱۵	۱.۴.۲.۸ توپولوژی شبکه عصبی مصنوعی
۱۷	۱.۵ انتخاب متغیر
۱۷	۱.۵.۱ مقدمه
۱۷	۱.۵.۲ سیستم رگرسیون چندتایی (MRS)
۲۰	۱.۶ آنالیز بر پایه مدل
۲۰	۱.۶.۱ الگوریتم نیوتون-رافسون
۲۳	۱.۶.۲ برازش حداقل مربعات غیرخطی
۲۶	فصل دوم
۲۶	مروری بر تحقیقات گذشته
۲۶	۲.۱ برخی از تحقیقات انجام شده در زمینه اندازه‌گیری هم‌زمان روی و کادمیم
۲۶	مقدمه
۲۸	۲.۲ برخی از تحقیقات انجام شده بر اساس روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر (IDA)
۲۸	مقدمه
۳۵	۳.۲ برخی از تحقیقات انجام شده در زمینه انتخاب متغیر در روش‌های رگرسیون
۳۵	مقدمه
۳۹	فصل سوم
۳۹	مواد، دستگاه‌ها و روش کار
۳۹	۳.۱ دستگاه و نرم‌افزارها
۳۹	۳.۲ تهیه محلول‌ها
۴۱	۳.۳ روش کار
۴۵	فصل چهارم
۴۵	نتایج و بحث



۴۵	۴. ۱ آنالیز چند متغیره‌ی مخلوط‌ها در سیستم‌های شیمیایی فاقد گزینش‌پذیری طیفی بر اساس روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر
۴۵	۴. ۱. ۱ مقدمه
۴۵	۴. ۱. ۲ مشابه‌سازی سیستم مورد مطالعه
۵۲	۴. ۱. ۲. ۱ اندازه‌گیری همزمان $M$ و $M'$
۵۲	۴. ۱. ۲. ۱. ۱ شبکه‌های عصبی تابع پایه شعاعی (RBFNN)
۵۵	۴. ۱. ۲. ۱. ۲ روش حداقل مربعات جزئی (PLS)
۵۸	۴. ۱. ۳ مطالعه طیفی اندازه‌گیری همزمان روی و کادمیم
۵۹	۴. ۱. ۳. ۱ بهینه‌سازی شرایط آزمایش
۵۹	۴. ۱. ۳. ۱. ۱ بهینه‌سازی غلظت لیگاند PAR
۶۲	۴. ۱. ۳. ۱. ۲ بهینه‌سازی pH
۶۵	۴. ۱. ۳. ۱. ۳ مطالعه اثر مایسل
۶۶	۴. ۱. ۳. ۱. ۴ مطالعه اثر ترکیب حلال
۶۸	۴. ۱. ۳. ۱. ۲ تعیین گستره کالیبراسیون
۷۰	۴. ۱. ۳. ۳ اندازه‌گیری همزمان روی و کادمیم با دو تکنیک کمومتریکس
۷۰	۴. ۱. ۳. ۳. ۱ شبکه‌های عصبی تابع پایه شعاعی (RBFNN)
۷۴	۴. ۱. ۳. ۳. ۲ روش حداقل مربعات جزئی (PLS)
۷۹	۴. ۱. ۴ نتیجه‌گیری
۸۰	۴. ۲ به کارگیری سیستم رگرسیون چندتایی در آنالیز مخلوط‌ها برای داده‌های بدون گزینش‌پذیری طیفی
۸۰	۴. ۲. ۱ مقدمه
۸۰	۴. ۲. ۲ سیستم رگرسیون چندتایی در اندازه‌گیری همزمان روی و کادمیم
۸۰	۴. ۲. ۲. ۱ روش حداقل مربعات جزئی (PLS)
۸۵	۴. ۲. ۲. ۲ شبکه‌های عصبی تابع پایه شعاعی (RBFNN)
۹۳	۴. ۲. ۳ آنالیز واریانس (ANOVA)
۹۸	۴. ۲. ۴ نتیجه‌گیری
۹۹	مراجع

## فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۱	۱.۱. شماتیک شناساگر- فضا ساز- گیرنده.
۲	۱.۲. شماتیک سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر.
۱۰	۱.۳. نمونه‌ای از یک نورون زیستی
۱۱	۱.۴. نمونه‌ای از یک نورون مصنوعی
۴۶	۱.۴. طیف خالص PAR و طیف خالص کمپلکس $Zn(PAR)_2$ در $pH = 9/00$
۴۷	۲.۴. طیف مشابه سازی شده کمپلکس $ML_2$ و $M'L_2$ به صورت مجزا در غلظت تجزیه‌ای برابر $M$ و $M'$ و $K=6/03 \times 10^1$
۴۸	۳.۴. طیف مشابه سازی شده دو مخلوط با ترکیب غلظتی متفاوت از $M$ و $M'$ اما پاسخ طیفی مشابه
۴۹	۴.۴. طیف مشابه سازی شده و سرهم زده شده دو مخلوط با ترکیب غلظتی متفاوت از $M$ و $M'$ تحت دو شرایط مختلف
۵۰	۵.۴. پروفایل‌های غلظتی مشابه سازی شده لیگاند ( $L$ ) و کمپلکس‌های $ML_2$ و $M'L_2$ برای سری آموزش
۵۰	۶.۴. پروفایل‌های غلظتی مشابه سازی شده لیگاند ( $L$ ) و کمپلکس‌های $ML_2$ و $M'L_2$ برای سری کنترل
۵۱	۷.۴. پروفایل‌های غلظتی مشابه سازی شده لیگاند ( $L$ ) و کمپلکس‌های $ML_2$ و $M'L_2$ برای سری ارزیابی
۵۱	۸.۴. داده جذبی مشابه سازی شده برای سری آموزش سیستم فرضی.
۵۲	۹.۴. داده جذبی مشابه سازی شده برای سری کنترل سیستم فرضی.
۵۲	۱۰.۴. داده جذبی مشابه سازی شده برای سری ارزیابی سیستم فرضی
۵۵	۱۱.۴. نمایش منحنی همبستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با RBFNN. برای گونه $M$ و $M'$
۵۶	۱۲.۴. منحنی PRESS بر حسب تعداد فاکتورها برای گونه $M$ و $M'$
۵۷	۱۳.۴. نمایش منحنی همبستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با PLS۱ برای گونه $M$ و $M'$
۵۸	۱۴.۴. نمایش طیف کمپلکس فلزات کادمیم، کبالت، روی، سرب، مس در نسبت مولی ۱:۲ فلز: لیگاند (PAR)
۵۸	۱۵.۴. نمایش طیف کمپلکس فلزات کادمیم و روی در نسبت مولی ۱:۲ فلز: لیگاند (PAR) در $pH = 9/00$
۶۰	۱۶.۴. نمایش تغییر سیگنال در $pH = 9/00$ به ازای تیتراژ غلظت‌های مختلف لیگاند PAR با نیترات روی

- ۶۱ ۴. ۱۷. نمایش تغییر سیگنال در  $pH = 9/00$  به ازای تیتراژ غلظت‌های مختلف لیگاند PAR با نیتراژ کادمیم
- ۶۱ ۴. ۱۸. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی فلز، لیگاند برای فلز روی و کادمیم در غلظت  $0/045 \text{ mM PAR}$
- ۶۳ ۴. ۱۹. نمایش تغییر سیگنال در  $pH$ های ۳، ۵، ۷ و ۹ به ازای تیتراژ PAR در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  با روی
- ۶۴ ۴. ۲۰. نمایش تغییر سیگنال در  $pH$ های ۳، ۵، ۷ و ۹ به ازای تیتراژ PAR در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  با نیتراژ کادمیم
- ۶۵ ۴. ۲۱. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی فلز، لیگاند در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM PAR}$  در  $pH$ های ۹ و ۷ برای فلز روی و کادمیم.
- ۶۶ ۴. ۲۲. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی لیگاند، فلز در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  PAR و در  $pH = 9/00$  و  $0/01 \text{ M SDS}$  برای روی و کادمیم
- ۶۶ ۴. ۲۳. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی لیگاند، فلز در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  در  $pH = 9/00$  و  $0/025 \text{ M SDS}$  برای فلز روی و کادمیم.
- ۶۷ ۴. ۲۴. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی لیگاند، فلز در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  و در  $pH = 9/00$  در ۵۰:۵۰ آب: استونیتریل برای فلز روی و کادمیم.
- ۶۷ ۴. ۲۵. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی لیگاند، فلز در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  و در  $pH = 9/00$  در ۶۶:۳۴ آب: استونیتریل برای فلز روی و کادمیم.
- ۶۸ ۴. ۲۶. نمایش تغییر جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر برحسب نسبت مولی لیگاند، فلز در غلظت تجزیه‌ای  $0/045 \text{ mM}$  و در  $pH = 9/00$  در ۵۰:۵۰ آب: اتانول برای فلز روی و کادمیم.
- ۶۹ ۴. ۲۷. نمایش سیگنال ثبت شده برای سری کالیبراسیون تحت  $pH$  ۷ و ۹.
- ۶۹ ۴. ۲۸. نمایش سیگنال ثبت شده برای سری کنترل تحت  $pH$  ۷ و ۹.
- ۶۹ ۴. ۲۹. نمایش سیگنال ثبت شده برای سری ارزیابی تحت  $pH$  ۷ و ۹.
- ۷۲ ۴. ۳۰. نمایش منحنی هم‌بستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با RBFNN برای روی و برای کادمیم.
- ۷۵ ۴. ۳۱. منحنی PRESS برحسب تعداد فاکتورها برای فلز روی و کادمیم
- ۷۶ ۴. ۳۲. نمایش منحنی هم‌بستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با PLS<sub>۱</sub> برای روی و کادمیم
- ۸۳ ۴. ۳۳. منحنی PRESS برحسب تعداد فاکتورها برای روی و کادمیم
- ۸۴ ۴. ۳۴. نمایش منحنی هم‌بستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با MRS-PLS برای روی و کادمیم
- ۹۱ ۴. ۳۵. نمایش منحنی هم‌بستگی بین غلظت واقعی و غلظت پیش‌بینی شده با MRS- RBFNN برای روی و کادمیم

## فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
۱. مقادیر مختلف غلظت روی و کادمیم به کار برده شده به عنوان محلول‌های کالیبراسیون بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۴۳
۲.۳. مقادیر مختلف غلظت روی و کادمیم به کار برده شده به عنوان محلول‌های کنترل بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۴۴
۳.۳. مقادیر مختلف غلظت روی و کادمیم به کار برده شده به عنوان محلول‌های ارزیابی بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۴۴
۴.۱. نتایج مقادیر بهینه پارامترهای مختلف شبکه با الگوریتم RBFNN برای هریک از گونه‌های M و M'	۵۴
۴.۲. مقادیر خطای %RSEP برای هر دو گونه M و M'	۵۷
۴.۳. نتایج ثابت‌های تعادل برای روی و کادمیم	۶۸
۴.۴. مقادیر مختلف غلظت روی و کادمیم به کار برده شده به عنوان محلول‌های کالیبراسیون بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۷۱
۴.۵. نتایج مقادیر بهینه پارامترهای مختلف شبکه با الگوریتم RBFNN برای هریک از گونه‌های روی و کادمیم	۷۳
۴.۶. مقادیر مختلف غلظت روی پیش‌بینی شده در سری کنترل با استفاده از روش RBFNN بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۷۶
۴.۷. مقادیر مختلف غلظت کادمیم پیش‌بینی شده در سری کنترل با استفاده از روش RBFNN بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۷۴
۴.۸. مقادیر مختلف غلظت روی پیش‌بینی شده در سری کنترل با استفاده از روش PLS بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۷۷
۴.۹. مقادیر مختلف غلظت کادمیم پیش‌بینی شده در سری کنترل با استفاده از روش PLS بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۷۸
۴.۱۰. تعداد پارامترهای بهینه در هر شبه‌ماتریس برای روی و کادمیم در مرحله رگرسیون.	۸۲
۴.۱۱. مقادیر خطای %RSEP برای روی و کادمیم با استفاده از روشهای MRS-PLS و MRS-RBFNN	۹۰
۴.۱۲. مقادیر مختلف غلظت روی پیش‌بینی شده در سری کنترل با روش MRS-PLS بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۸۵
۴.۱۳. مقادیر مختلف غلظت کادمیم پیش‌بینی شده در سری کنترل با روش MRS-PLS بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۸۶
۴.۱۴. پارامترهای بهینه RBFNN در هر شبه‌ماتریس برای فلز روی در مرحله رگرسیون	۸۸
۴.۱۵. پارامترهای بهینه RBFNN در هر شبه‌ماتریس برای فلز کادمیم در مرحله رگرسیون	۸۹
۴.۱۶. نتایج مقادیر بهینه پارامترهای مختلف شبکه با الگوریتم RBFNN برای هریک از گونه‌های روی و کادمیم	۹۰
۴.۱۷. مقادیر مختلف غلظت روی پیش‌بینی شده در سری کنترل با روش MRS-RBFNN بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۹۲
۴.۱۸. مقادیر مختلف غلظت کادمیم پیش‌بینی شده در سری کنترل با روش MRS-RBFNN بر حسب میلی‌گرم بر لیتر	۹۳

۹۵	۱۹.۴. نتایج حاصل از مقایسه $PLS$ , $RBFFNN$ , $MRS-PLS$ , $MRS-RBFFNN$ برای اندازه‌گیری روی با استفاده از ANOVA
۹۵	۲۰.۴. نتایج حاصل از مقایسه $PLS$ , $RBFFNN$ , $MRS-PLS$ , $MRS-RBFFNN$ برای اندازه‌گیری کادمیم با استفاده از ANOVA
۹۶	۲۱.۴. مقادیر خطای مطلق بدست آمده برای روی
۹۷	۲۲.۴. مقادیر خطای مطلق بدست آمده برای کادمیم

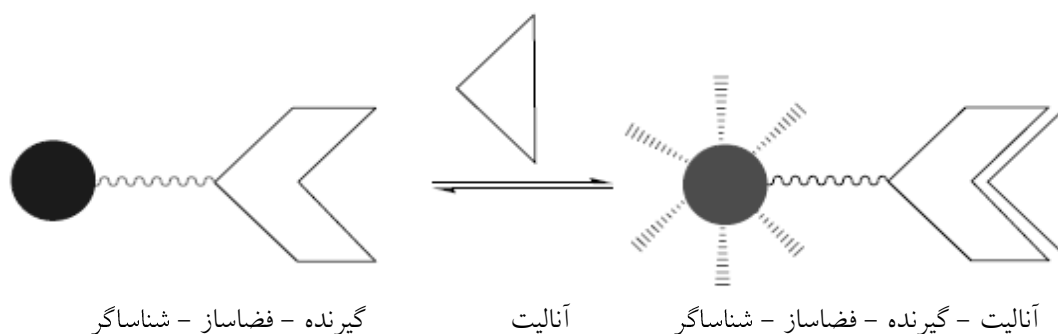
# فصل اول

## مقدمه

### ۱.۱ مقدمه‌ای بر روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر<sup>۱</sup>

شناساگر-فضاساز-گیرنده<sup>۲</sup> روشی است که به‌طور گسترده به‌عنوان حسگر شیمیایی و به‌منظور شناسایی و تشخیص مولکول استفاده شده است. در این روش یک شناساگر (رنگی یا فلورسان) به صورت کووالانسی به وسیله‌ی یک فضاساز به گیرنده پیوند می‌شود (شکل ۱.۱).

این روش معایبی دارد که سبب محدود شدن کاربرد آن شده است. اولاً پیوند شناساگر و گیرنده ممکن است نیازمند سنتز پیچیده و مشکل باشد. ثانیاً استفاده از یک میزبان (گیرنده) برای چند شناساگر و یا یک شناساگر با چند میزبان آسان نمی‌باشد. یک راه برای رفع این مشکلات استفاده از روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر به جای روش شناساگر-فضاساز-گیرنده است [۱].



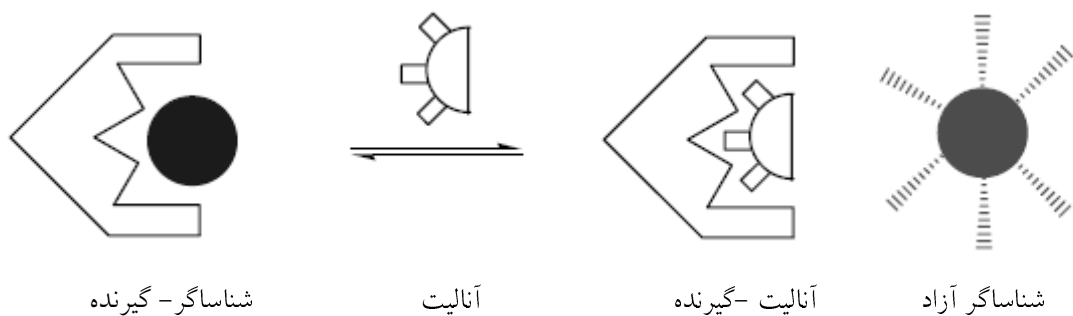
شکل (۱.۱). شناساگر-فضاساز-گیرنده. پیوند شدن آنالیت به گیرنده سبب تغییر رنگ شناساگر از قرمز به آبی می‌شود.

<sup>۱</sup> Indicator Displacement Assay (IDA)

<sup>۲</sup> Indicator-Spacer-Receptor (ISR)

## ۱.۱.۱ سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر

در روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر، یک شناساگر به صورت کاملاً برگشت پذیر با گیرنده پیوند می‌دهد. سپس یک آنالیت رقابتی به محیط افزوده می‌شود که این سبب جایگزینی شناساگر پیوندشده با میزبان می‌شود، این جایگزینی سبب تغییر سیگنال نوری شناساگر شده و از این تغییرات به منظور شناسایی آنالیت استفاده می‌گردد (شکل ۲.۱). بر اساس آنچه گفته شد آنچه در روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر مورد نیاز است این است که تمایل بین شناساگر و گیرنده باید قابل مقایسه با تمایل بین آنالیت و گیرنده باشد.



شکل (۲.۱). سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر. پیوند شدن رقابتی آنالیت به گیرنده سبب جایگزینی شناساگر از حفره گیرنده شده و نتیجه آن تغییر رنگ شناساگر از قرمز به آبی می‌باشد.

متداولترین برهمکنش‌ها بین شناساگر یا آنالیت با میزبان از نوع پیوند هیدروژنی، نیروی الکترواستاتیک و تشکیل کمپلکس با مراکز فلزی می‌باشد.

روش سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر بر روش‌های قدیمی شناسایی و تشخیص مزیت‌هایی دارد. اولاً در این روش نیازی به پیوند شدن کووالانسی شناساگر با گیرنده نیست. دوماً به دلیل اینکه پیوند کووالانسی بین شناساگر و گیرنده وجود ندارد؛ در نتیجه می‌توان چندین شناساگر متفاوت را با یک گیرنده واحد به کار گرفت. سوماً سنجش در دو محیط آلی و آبی امکان پذیر می‌باشد. روش‌های سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر به سه دسته تقسیم می‌شود. اولین دسته، سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر رنگ‌سنجی<sup>۱</sup> است که از یک شناساگر رنگ‌سنجی استفاده می‌شود. دسته دوم، سنجش بر مبنای جایگزینی شناساگر فلورسانسی<sup>۲</sup> است که از یک شناساگر فلورسان استفاده می‌شود و

<sup>۱</sup> Colorimetric IDA (C-IDA)

<sup>۲</sup> Fluorescent IDA (F-IDA)

سومین دسته عبارتست از سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر تشکیل کمپلکس<sup>۱</sup>؛ که در این دسته مراکز فلزی با یک شناساگر رنگی یا فلورسانس کننده تشکیل کیفیت می دهند [۲].

### ۱.۲ آنالیز مخلوط‌های شیمیایی در سیستم‌های تعادلی

واکنش‌های به‌کار رفته در شیمی تجزیه بندرت کامل‌اند و معمولاً به سوی وضعیت تعادل شیمیایی پیش می‌روند که در آن نسبت غلظت واکنش‌دهنده‌ها و محصولات ثابت است. آنالیز مخلوط‌های شیمیایی در سیستم‌های تعادلی با استفاده از کمومتریکس، کاملاً متداول می‌باشد. تقریباً در همه‌ی این روش‌ها نیاز به گزینش پذیری طیفی اجتناب ناپذیر است. یعنی تنها گونه‌هایی که خود یا محصول حاصل از تعادل شیمیایی آنها دارای طیف متفاوت باشند، قابل اندازه‌گیری هم‌زمان هستند.

همان‌طور که گفته شد در روش سنجش برمبنای جایگزینی شناساگر، از رقابت بین آنالیت و شناساگر برای پیوند با مولکول گیرنده به منظور شناسایی آنالیت استفاده شده است. تفاوت در ثابت‌های تعادل گونه‌های رقیب تحت شرایط مختلف باعث می‌گردد داده‌های اسپکتروسکوپی ایجاد گردد که امکان اندازه‌گیری هم‌زمان در سیستم‌های فاقد گزینش پذیری طیفی میسر شود. اندازه‌گیری مخلوط‌های چندتایی تحت شرایط مختلف در ناحیه تعادلی امکان‌پذیر می‌باشد.

### ۱.۳ کمبود مرتبه<sup>۲</sup>

بسیاری از داده‌های تجربی در شیمی شامل داده‌های دوبعدی هستند که از طیف‌های ثبت شده فرایند-ها در مقادیر مختلف پارامترهای وابسته آزمایشگاهی مانند pH، زمان و دما به دست می‌آید. مرتبه یک ماتریس به بیان ریاضی، حداقل تعداد ردیف‌ها یا ستون‌های مستقل خطی آن ماتریس است. در حالی که مرتبه شیمیایی، برابر با تعداد گونه‌های شیمیایی فعال موجود در سیستم است. که توسط روش تجزیه مقادیر منفرد<sup>۳</sup> (SVD) محاسبه می‌گردد [۳].

در شرایط تجربی مواردی پیش می‌آید که داده‌های اسپکترو فتومتری همراه با کمبود مرتبه هستند. کمبود در داده‌ها زمانی وجود دارد که مرتبه ماتریس داده مورد نظر کمتر از تعداد گونه‌های موجود در سیستم باشد. در این شرایط روش‌های بر پایه تجزیه مقادیر منفرد در تشخیص تعداد گونه‌های صحیح، ناتوان هستند. یکی از دلایل، کمبود شباهت بسیار زیاد بین پروفایل‌های غلظتی یا پروفایل‌های طیفی گونه‌های موجود در داده‌هاست. به بیان دیگر اگر پروفایل‌های غلظتی یا طیفی ضریبی از

<sup>۱</sup> Metal-complexing IDA (M-IDA)

<sup>۲</sup> Rank Deficiency

<sup>۳</sup> Singular Value Decomposition



یکدیگر باشند، کمبود در سیستم مشاهده می‌شود. دلیل دیگر بسته بودن سیستم است. در سیستم‌های بسته همواره مجموع غلظت تمام گونه‌های موجود در سیستم برابر با مقداری ثابت است؛ این امر به دلیل قانون موازنه جرم می‌باشد و سبب وابستگی بین پروفایل‌های غلظتی گونه‌های موجود می‌شود. بنابراین کمبود در سیستم مشاهده می‌شود. سرهم زدن داده‌ها روشی کارا و راحت برای از بین بردن کمبود مرتبه در سیستم است که امکان تفکیک داده‌ها به پروفایل‌های غلظتی و طیفی صحیح را ایجاد می‌کند.

## ۱. ۴ روش‌های کالیبراسیون چند متغیره<sup>۱</sup>

روش‌های کالیبراسیون چند متغیره روش‌هایی هستند که در آن‌ها به جای یک متغیر (مثلاً طول‌موج بیشینه) از تعدادی متغیر (مثل کل طیف جذبی) جهت کالیبره کردن سیستم استفاده می‌شود. این کار شبیه انجام تعدادی آزمایش و در نتیجه میانگین‌گیری از آن‌ها است، که باعث افزایش دقت می‌گردد. با استفاده از این روش‌ها، می‌توان مدل‌هایی ساخت که بتوانند بین متغیرهای وابسته و مستقل ارتباط برقرار کنند و از طریق این ارتباط اطلاعات مربوط به نمونه‌های مجهول را به دست آورد. مراحل کالیبراسیون معمولاً شامل طراحی آزمایش، انتخاب مدل، تخمین پارامترها و پیش‌بینی مجهول است. در کالیبراسیون‌های یک متغیره امکان تصحیح مزاحم‌ها بدون وارد کردن اطلاعات اضافی وجود ندارد. در حالیکه روش‌های چند متغیره قادر به جدا کردن اطلاعات مفید از اطلاعات نامناسب مثل نویز است، بدون اینکه اطلاعات اضافی دیگری برای این کار لازم باشد. روش‌های کالیبراسیون چند متغیره خطی مانند رگرسیون جزء اصلی<sup>۲</sup> [۴] و حداقل مربعات جزئی<sup>۳</sup> [۵] و غیرخطی مانند شبکه‌های عصبی مصنوعی [۶] و حداقل مربعات جزئی غیر خطی<sup>۴</sup> است.

### ۱. ۴. ۱ روش حداقل مربعات جزئی

در سال ۱۹۷۵ روش PLS توسط هرمان ولد<sup>۵</sup> برای مدل کردن دسته‌ای از داده‌های پیچیده انجام شد. در این مدل از روش NIPALS<sup>۶</sup> استفاده شده است که راهی ساده و کافی برای تخمین پارامترها در این مدل می‌باشد.

<sup>۱</sup> Multivariate Calibration

<sup>۲</sup> Principle Component Regression (PCR)

<sup>۳</sup> Partial Least Squares (PLS)

<sup>۴</sup> Non Linear Partial Least Squares

<sup>۵</sup> Herman Wold

<sup>۶</sup> Non Linear Iterative Partial Least Squares

PLS ترکیبی از PCA و رگرسیون خطی چندمتغیره<sup>۱</sup> (MLR) است و از جمله روش‌هایی است که برای سیستم‌های خطی به کار می‌رود. MLR روشی است که در آن فاکتورهایی را می‌یابد که بهترین هم‌بستگی را بین متغیرهای وابسته و متغیرهای مستقل برقرار می‌کند. در PCA فاکتورهای اصلی (PC) تنها از مقدار واریانس روی پاسخ‌های دستگاهی تعیین می‌شود و این فاکتورها هیچ نوع اطلاعاتی در مورد متغیرهای پیش‌بینی‌شونده نمی‌دهند ولی در PLS هدف یافتن فاکتورهایی است که بتوانند علاوه بر ایجاد بیشترین واریانس، بهترین هم‌بستگی را نیز بین متغیرهای وابسته و مستقل برقرار نمایند.

روش PLS جزء روش‌های معکوس است؛ به این ترتیب که ماتریس داده‌های اندازه‌گیری شده، متغیرهای مستقل و ماتریس داده‌های غلظت، متغیرهای وابسته می‌باشد.

هدف PLS پیش‌بینی متغیرهای وابسته از متغیرهای مستقل است. این پیش‌بینی بوسیله استخراج فاکتورهای عمود بر هم که متغیرهای پنهانی گفته می‌شوند، انجام می‌شود که دارای بهترین توانایی پیش‌بینی است. این روش بویژه برای زمانی که به پیش‌بینی یک مجموعه از متغیرهای وابسته از یک مجموعه خیلی بزرگ متغیرهای مستقل نیازمند هستیم سودمند است [۷].

برای فهم بهتر قبل از پرداختن به PLS، روش حداقل مربعات به طور مختصر در زیر آورده شده است.

فرض کنید که دو ماتریس حاوی داده‌های جذب و غلظت شناخته شده وجود دارد که به صورت زیر به همدیگر مرتبط هستند:

$$X = YB \quad (۱.۱)$$

$X$  ماتریس داده‌های جذب با ابعاد  $(m \times n)$  و  $Y$  ماتریس داده‌های غلظت با ابعاد  $(m \times j)$  می‌باشد. که  $m$  تعداد نمونه‌ها،  $n$  تعداد طول‌موج‌ها و  $j$  تعداد گونه‌ها می‌باشد.  $B$  ضریب رگرسیون با ابعاد  $(j \times n)$  است که این دو ماتریس را به هم مرتبط می‌کند. در واقع هدف پیدا کردن این ضریب رگرسیون با استفاده از داده‌های شناخته شده جذب و غلظت است و مرحله بعد به کار بردن  $B$  به دست آمده برای داده‌های ناشناخته و به دست آوردن پارامتر مورد نظر می‌باشد.

<sup>۱</sup> Multivariate Linear Regration (MLR)

برای به دست آوردن ضریب رگرسیون این گونه عمل می شود که طرفین معادله (۱.۱) در معکوس ماتریس غلظت ضرب می شود. البته زمانی که ماتریس غلظت مربع (متقارن و عناصر تصویری نسبت به قطر ماتریس یکسان باشد) و مرتبه کامل<sup>۱</sup> باشد.

$$Y^{-1}Y = I \quad (۲.۱)$$

$$Y^{-1}X = B \quad (۳.۱)$$

I ماتریس همانی<sup>۲</sup> است که تمام عناصر آن برابر یک است. اما اگر ماتریس غلظت مربع نباشد به صورت زیر عمل می شود:

$$(Y^T Y)^{-1} (Y^T Y) = Y^+ Y = I \quad (۴.۱)$$

$$Y^+ X = B \quad (۵.۱)$$

حالا این B به دست آمده برای ماتریس داده ناشناخته به کار می رود و غلظت محاسبه می گردد.

$$X_{um} = Y_{um} B = Y_{um} (Y^{-1} X) \quad (۶.۱)$$

در روش بالا از داده های اصلی برای به دست آوردن ضریب رگرسیون استفاده شد. در PLS ماتریس X (جذب)، متغیر مستقل و ماتریس Y (غلظت)، متغیر وابسته می باشد. PLS اجزایی از X (متغیر مستقل) را پیدا می کند که به Y (متغیر وابسته) مربوط است؛ در این روش بالاترین کوواریانس بین X و Y مورد نظر است. PLS هر دو X و Y را به یک مجموعه فاکتورهای عمود بر هم و یک مجموعه بارهای ویژه تجزیه می کند. بنابراین متغیرهای مستقل به صورت زیر تجزیه می شوند:

$$X = TP^T \quad (۷.۱)$$

---

<sup>۱</sup> Full Rank

<sup>۲</sup> Identity

در مقایسه با PCA، T ماتریس امتیاز<sup>۱</sup> و P ماتریس بار<sup>۲</sup> نامیده می‌شود. همچنین متغیرهای وابسته نیز به صورت زیر تجزیه می‌شوند:

$$Y = TQ^T \quad (۸.۱)$$

Q ماتریس بار متغیرهای وابسته می‌باشد و ستون‌های T بردارهای پنهان (امتیاز) هستند. زمانی که تعدادشان مساوی با مرتبه X است آن موقع تجزیه دقیق X صورت گرفته است.

مراحل انجام PLS با الگوریتم NIPALS به صورت زیر است:

۱- اولین سطر یا ستون ماتریس Y را به عنوان بار در نظر گرفته (u) و سپس آن را نرمال کرده (این کار باعث آوردن داده‌ها در یک رنج می‌شود) و در X ضرب می‌شود تا ماتریس بار X به دست آید.

الف - نرمال کردن سطر یا ستون ماتریس Y (این مرحله ضروری نیست):

$$u_1 = \frac{u}{\|u\|} \quad (۹.۱)$$

ب - محاسبه بارها برای ماتریس X:

$$w_1 = X^T u_1 \quad (۱۰.۱)$$

۲- مرحله دوم به دست آوردن ماتریس امتیاز X از حاصل ضرب زیر است:

$$t_1 = Xw_1 \quad (۱۱.۱)$$

۳- مرحله سوم به دست آوردن ماتریس بار Y با استفاده از وارد کردن ماتریس امتیاز X در فضای ماتریس Y است.

$$q_1 = Y^T t_1 \quad (۱۲.۱)$$

۴- مرحله چهارم محاسبه ماتریس امتیاز Y با استفاده از رابطه زیر است:

$$u_1 = Yq_1 \quad (۱۳.۱)$$

---

<sup>۱</sup> Score

<sup>۲</sup> Loading