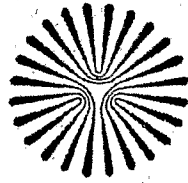


صلى الله عليه وسلم

۱۷۱۱۱۰۲۹۰۴
۱۷۱۱۱۷



دانشگاه پیام نور

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته شیمی

دانشکده علوم

گروه علمی شیمی

عنوان پایان نامه:

اندازه گیری همزمان دوپامین و اسید اسکوریک در

نمونه های حقیقی با استفاده از روش حداقل مربعات

جزئی (PLS)

استاد راهنما:

دکتر حسین توللی

دکتر حبیب الله خواجه شریفی

نگارش:

لیلا جهان بین

تابستان ۸۷

مطالعات کارشناسی ارشد
شیمی

۱۳۸۷ / ۹ / ۳ -

۱۰۲۹۲۹



بسمه تعالی

تصویب پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان اندازه گیری اسپکتروفتومتری همزمان دوپامین و اسید اسکوربیک در نمونه های بیولوژیکی با استفاده از روش کالیبراسیون چند متغیره که توسط لیلا جهان بین در مرکز شیراز تهیه و به هیأت داوران ارائه گردیده است مورد تأیید می باشد.

درجه ارزشیابی : خوب

نمره : ۱۶/۱

تاریخ دفاع : ۸۷/۴/۱۷

اعضای هیئت داوران :

امضاء : مرتبه علمی :

هیأت داوران :

نام و نام خانوادگی :

استادیار
استادیار
استادیار
استاد یار

استاد راهنما

استاد راهنما

استاد داور

نماینده تصحیلات تکمیلی

۱. آقای دکتر حسین توللی

۲. آقای دکتر حبیب اله

خواجه شریفی

۳. خانم دکتر لیلا برامکه

۴. آقای دکتر احمد خاکساری

۱۰۲۹۶۹

تقدیم به

پدر و مادرم

که دل به سپاس نبسته اند و جاذبه عشق و الفتشان در بی چشمداشتی است.

سپاس بی شمار آفریدگاری را سزاست که زیان ستایش گران از وصف کمالش عاجز و کوشش گران سپاس گویش با تلاشی هر قدر گران نتوانند کز عهده شکرش بدر آیند .

قبل از هر چیز ، در کمال خاکساری ، آفریدگار بی مثال را به خاطر همه نعمات بی انجام و کرامات بی مانندش به بزرگی می ستایم و در سایه لطف و رحمتش ، عزتش را عزیز می دارم و در کمال نیاز از درگاه احدیتش یاری می طلبیم .
دستیابی به علم ، انگیزه پنهان بشریت در تمام دوران ها است و این تکامل ، پیشرفت و مفید بودن را بعد از خداوند متعال مدیون همه کسانی هستیم که بستر پرورش و بالیدنمان را فراهم نموده اند . در این راه از اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر خواجه شریفی و دکتر توللی که بدون هیچ چشمداشتی صرفاً در راه پیشرفت علم و تحقیق یک پروژه تحقیقاتی مرا یاری دادند و به خاطر حمایتهای بی دریغ این عزیزان کمال سپاس و قدر دانی را دارم .
همچنین از کلیه عزیزانی که مرا در انجام این پروژه یاری دادند کمال سپاس و تشکر را دارم و موفقیت خود را مدیون این عزیزان می دانم .

چکیده فارسی

اندازه گیری همزمان دوپامین و اسید اسکوربیک در نمونه های حقیقی با استفاده از روش حداقل مربعات جزئی (PLS)

در این تحقیق از روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری همزمان دوپامین و اسید اسکوربیک در نمونه های حقیقی استفاده شده است. از آنجایی که طیف جذبی این دو آنالیت با یکدیگر همپوشانی دارند جداسازی و اندازه گیری این دو آنالیت در این مخلوطها با روشهای معمول با مشکل مواجه است. در این تحقیق با استفاده از روش شیمی سنجی یعنی استفاده از روش کمترین مربعات جزئی (PLS) اندازه گیری همزمان این دو آنالیت در مخلوطهای استاندارد و حقیقی انجام گرفته است. دامنه خطی این روش برای دوپامین و اسید اسکوربیک به ترتیب در محدوده $113/4 - 1/89$ و $28/63 - 1/73$ میکرو گرم بر میلی لیتر قرار دارد. در این روش از یک روش ارزیابی مقاطع برای تعیین تعداد اجزاء اصلی استفاده شده است همچنین برای دوپامین و اسید اسکوربیک تعداد اجزاء اصلی به ترتیب ۲ و ۲ است. همچنین مقدار جذر میانگین مربعات تفاوتها (RMSD) برای دوپامین و اسید اسکوربیک به ترتیب $2/16$ و $1/35$ است. مقدار جمع مربعات خطای پیش گویی (PRESS) برای دوپامین و اسید اسکوربیک به ترتیب $0/74$ و $0/58$ بدست آمده است. همچنین مربع ضریب همبستگی برای دوپامین و اسید اسکوربیک به ترتیب $0/9995$ و $0/9324$ بدست آمده است. با استفاده از PLS نتایج قابل قبولی برای اندازه گیری همزمان اسید اسکوربیک و دوپامین در نمونه های حقیقی بدست آمده است.

فهرست مطالب

| صفحه | عنوان |
|------|-------|
|------|-------|

فصل اول: مقدمه

| | |
|-------|--------------------------------|
| ۱ | ۱- کاربرد ریاضی و آمار در شیمی |
| ۱-۱-۱ | ۱-۱-۱ کموتریکس |
| ۳ | ۲-۱-۱ کالیبراسیون و ارزیابی |
| ۳ | ۱-۲-۱-۱ انواع کالیبراسیون |
| ۵ | ۲-۲-۱-۱ روش کیفی کالیبراسیون |
| ۵ | ۳-۲-۱-۱ تکنیکهای پایه |
| ۶ | ۴-۲-۱-۱ کمترین مربعات |
| ۸ | ۵-۲-۱-۱ ماتریسها |
| ۹ | ۶-۲-۱-۱ ماتریس منفرد |
| ۱۰ | ۳-۱-۱ اصول آنالیز اجزاء |
| ۱۱ | ۴-۱-۱ مکانیسم |
| ۱۲ | ۵-۱-۱ جزءهای اصلی در دو بعد |
| ۱۶ | ۱-۵-۱-۱ ماتریس کواریانس |
| ۱۷ | ۲-۵-۱-۱ مدل کردن |
| ۱۸ | ۶-۱-۱ PCR و PLS |
| ۲۰ | ۱-۶-۱-۱ PLS |
| ۲۳ | ۲-۶-۱-۱ PLSR |
| ۲۵ | ۳-۶-۱-۱ کاربرد PLS در مثالها |
| ۲۷ | ۴-۶-۱-۱ مقایسه ۲- PLS و ۱- PLS |

| صفحه | عنوان |
|------|-------|
|------|-------|

| | |
|---------|--|
| ۲۸..... | ۵-۶-۱-۱ گزارش مراحل |
| ۲۸..... | ۶-۶-۱-۱ PLS -۱ |
| ۲۸..... | ۷-۶-۱-۱ پیشگوئی برای PLS-۱ |
| ۳۰..... | ۸-۶-۱-۱ خلاصه مطالب بیان شده |
| ۳۰..... | ۹-۶-۱-۱ الگوریتم پیشگوئی برای PLS -۱ |
| ۳۲..... | ۲-۱ مربعات حداقل جزئی |
| ۳۳..... | ۱-۲-۱ روش محاسبه ای |
| ۳۳..... | ۱-۱-۲-۱ مدل پایه |
| ۳۵..... | ۲-۱-۲-۱ الگوریتم نیپالس |
| ۳۵..... | ۳-۱-۲-۱ الگوریتم مربعات حداقل جزئی |
| ۳۶..... | ۲-۲-۱ ارزیابی مقاطع |
| ۳۶..... | ۳-۲-۱ انواع آنالیزها |
| ۳۷..... | ۳-۱ دوپامین |
| ۳۷..... | ۱-۳-۱ مشخصات دوپامین |
| ۳۷..... | ۱-۱-۳-۱ خواص شیمیایی و فیزیکی دوپامین |
| ۳۸..... | ۲-۳-۱ تاریخچه |
| ۳۸..... | ۳-۳-۱ واکنشهای شیمیایی دوپامین |
| ۳۸..... | ۴-۳-۱ عملکرد دوپامین در مغز |
| ۴۰..... | ۴-۱ اسید اسکوریک |
| ۴۰..... | ۱-۴-۱ خواص فیزیکی و شیمیایی اسید اسکوریک |
| ۴۱..... | ۲-۴-۱ موارد استفاده |
| ۴۲..... | ۳-۴-۱ منابع غذایی |

| صفحه | عنوان |
|------|-------|
|------|-------|

| | |
|----------|--|
| ۴۲ | ۴-۱-۴ اشکال دیگر |
| ۴۲ | ۴-۱-۵ نحوه مصرف |
| ۴۳ | ۴-۱-۶ موارد احتیاط |
| ۴۳ | ۵-۱ اهمیت اندازه گیری همزمان اسید اسکوریک و دوپامین در نمونه های حقیقی |
| ۴۳ | ۶-۱ مروری بر کارهای انجام شده |

فصل دوم: آزمایش ها و نتایج

| | |
|----------|---|
| ۵۰ | ۲-۱ مواد مورد استفاده |
| ۵۰ | ۲-۲ دستگاهوری |
| ۵۰ | ۲-۳ نرم افزار و سخت افزار |
| ۵۱ | ۲-۴ تهیه محلولها |
| ۵۱ | ۲-۴-۱ تهیه محلول سرم و پلاسما |
| ۵۱ | ۲-۴-۲ تهیه نمونه ادرار |
| ۵۲ | ۲-۴-۳ اندازه گیری جذب همزمان در نمونه های حقیقی |
| ۵۲ | ۲-۵ روشن کار |
| ۵۲ | ۲-۶ بحث و نتیجه گیری |
| ۵۲ | ۲-۶-۱ طیفهای جذبی دوپامین و اسید اسکوریک |
| ۵۴ | ۲-۶-۲ ثبت طیف جذبی نمونه های حقیقی |
| ۵۶ | ۲-۷ کالیبراسیون تک متغیره |
| ۵۹ | ۲-۸ کالیبراسیون چند متغیره |

| عنوان | صفحه |
|-------|------|
|-------|------|

| | |
|---|----|
| ۱-۸-۲ مقدار فاکتورهای بهینه..... | ۶۳ |
| ۲-۸-۲ پارامترهای آماری..... | ۶۶ |
| ۳-۸-۲ اندازه گیری دوپامین و اسید اسکوربیک در نمونه های حقیقی..... | ۶۷ |
| ۹-۲ رسم نمودار بار..... | ۶۸ |
| ۱۰-۲ نتیجه گیری..... | ۷۳ |

فهرست منابع

| عنوان | صفحه |
|-------|------|
|-------|------|

فهرست جداول

- جدول ۱-۲ داده های جذبی برحسب غلظت درکالیبراسیون تک متغیره ۵۸
- جدول ۲-۲ طراحی غلظت برای مجموعه کالیبراسیون ۶۰
- جدول ۳-۲ طراحی غلظت برای مجموعه پیشگویی ۶۱
- جدول ۴-۲ جدول بازیابی برای دوپامین و اسید اسکوربیک در کالیبراسیون چند متغیره ۶۲
- جدول ۵-۲ پارامترهای آماری بهینه شده بوسیله روش PLS ۶۷
- جدول ۶-۲ اندازه گیری همزمان دوپامین و اسید اسکوربیک در نمونه های حقیقی ۷۸

فهرست تصاویر

- شکل ۱-۱ شکل ساختاری دوپامین ۳۷
- شکل ۲-۱ واکنشهای شیمیایی دوپامین ۳۸
- شکل ۳-۱ شکل ساختاری اسید اسکوربیک ۴۱
- شکل ۱-۲ طیف جذبی دوپامین ۵۳
- شکل ۲-۲ طیف جذبی اسید اسکوربیک ۵۳
- شکل ۳-۲ همپوشانی طیف دوپامین و اسید اسکوربیک ۵۴
- شکل ۴-۲ طیف جذبی همزمان اسید اسکوربیک و دوپامین در نمونه پلاسما ۵۵
- شکل ۵-۲ طیف جذبی همزمان اسید اسکوربیک و دوپامین در نمونه ادرار ۵۵
- شکل ۶-۲ طیف جذبی همزمان اسید اسکوربیک و دوپامین در نمونه سرم ۵۶
- شکل ۷-۲ نمودار کالیبراسیون تک متغیره گونه دوپامین ۵۷
- شکل ۸-۲ نمودار کالیبراسیون تک متغیره گونه اسید اسکوربیک (AA) ۵۷
- شکل ۹-۲ طیف جذبی کالیبراسیون چند متغیره گونه دوپامین (DA) و اسید اسکوربیک (AA) ۵۹
- شکل ۱۰-۲ نمودار PRESS بر حسب فاکتورها در پیشگویی غلظتهای دوپامین ۶۴
- شکل ۱۱-۲ نمودار PRESS بر حسب فاکتورها در پیشگویی غلظتهای اسید اسکوربیک ۶۴
- شکل ۱۲-۲ نمودار غلظت واقعی و محاسبه ای دوپامین (DA) ۶۴
- شکل ۱۳-۲ نمودار غلظت واقعی و محاسبه ای اسید اسکوربیک (AA) ۶۶
- شکل ۱۴-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی دوپامین ۶۹
- شکل ۱۵-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی اسید اسکوربیک ۶۹

- شکل ۱۶-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی دوپامین در نمونه سرم..... ۷۰
- شکل ۱۷-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی اسید اسکوربیک در نمونه سرم..... ۷۰
- شکل ۱۸-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی دوپامین در نمونه پلاسما..... ۷۱
- شکل ۱۹-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی اسید اسکوربیک در نمونه پلاسما..... ۷۱
- شکل ۲۰-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی دوپامین در نمونه ادرار..... ۷۲
- شکل ۲۱-۲ نمودار بار برای مقادیر غلظتی اسید اسکوربیک در نمونه ادرار..... ۷۲

فصل اول

مقدمه

۱-۱ کاربرد ریاضی و آمار در شیمی کمومتریکس^۱ [۱]

امروزه یکی از شاخه های مهم در شیمی، شیمی تجزیه می باشد. این شاخه در واقع تمامی شاخه های شیمی را به هم ربط می دهد.

یک شیمیست که در شاخه تجزیه کاری کند لازم است که علوم وابسته به رشته خود را بداند تا بتواند اطلاعات مورد نیاز خود را از سیستم شیمیایی استخراج کند. علاوه بر این، شیمی دان تجزیه باید در علم کامپیوتر نیز خبره باشد و اطلاع کافی از قسمت سخت افزاری دستگاه مورد نظر خود داشته باشد. در بسیاری از موارد شیمی دان یک خصوصیت مثل جریان الکتریکی، میزان نور عبوری و... را به غلظت ماده مورد نظر ربط می دهد و بر اساس یک سری روابط ریاضی گونه مورد نظر اندازه گیری می شود. روش های گوناگونی همانند الکتروشیمی و اسپکتروسکوپی این امر را میسر می کنند. گسترش علوم از یک طرف و نیاز روزمره به دانسته های شیمی، دانشمندان را بر آن داشت که هر چه بیشتر روابط ریاضی را وارد مقوله شیمی کنند تا بر اساس این روابط ریاضی بتوانند خواسته های خود را در شیمی با توفیق بیشتری دنبال کنند. پیشرفت علم کامپیوتر نیز این روند را تسریع بخشید، به طوری که امروزه اکثر نیازهای ریاضی در شیمی به راحتی در بسته های نرم افزاری یافت می شوند. ورود دانش ریاضی در شیمی مهم ترین اثری که می توانست داشته باشد این است که از تعداد آزمایش های مربوط تا حد امکان کاسته شود و تمرکز بیشتر، بحث بر روی رفتار گونه باشد بدون اینکه آزمایشها تکرار شوند.

۱-۱-۱ کمومتریکس

به طور کلی کاربرد ریاضی در شیمی را کمومتریکس می نامند: «نظم مربوط به کاربرد روش های ریاضی و آمار در شیمی». به طور کلی در این روش، ارتباط داده های موجود در مخلوط های پیچیده مورد بررسی قرار می گیرد. اساس روش های کمومتریکس در اوایل سال ۱۹۷۰ توسط سوانت ولد^۲ و بروس کوالسکی^۳ بر اساس شاخه شیمی تجزیه پایه گذاری شد. هالند^۴ و توماس هرش^۵ در سال ۱۹۸۰ کمومتریکس را به صورت کلاسیک در آوردند [۲]. مرحله اول آن قبل از سال ۱۹۷۰ بود. اساس کمومتریکس جبر خطی و استفاده از ماتریس ها و بردارها می باشد و یکی از

1 Chemometrics

2 Swant Wold

3 Bruce R. Kowalski

4 Haaland

5 Thomas Hersh

فاکتورهای اساسی برای استفاده از کمومتریکس وجود یک کامپیوتر است که توان به کارگیری از قابلیت های کمومتریکس را چندین برابر کرده است. با استفاده از داده های به دست آمده از آزمایش های شیمیایی روی گونه های مجهول و به نظم در آوردن آنها اطلاعات کمی و کیفی از این گونه ها رامی توان استخراج نمود. اما داده های به دست آمده از روش های شیمیایی خام و بی معنی هستند، به همین جهت لازم است که برای دستیابی به اطلاعات مطلوب از چند روش و مدل تجزیه ای استفاده شود. به طور خلاصه می توان گفت که داده های گوناگونی در تجزیه مواد مورد استفاده قرار می گیرند که تمام این داده ها در سه دسته قرار می گیرند [۳]:

۱) دسته اول

داده های نرم^۱: شامل نشانه ها، مشروحات و دسته های انتقالی (دسته های شغلی) می باشند که به طور کلی به این نوع داده ها داده های کیفی می گویند.
داده های عددی^۲: شامل اعداد وزمها و نمادها است که به این داده ها، داده های کمی نیز می گویند.

۲) دسته دوم

داده های طبیعی: ناشی از پدیده های طبیعی است.
داده های آزمایشگاهی: اندازه گیری خصوصیتی از گونه مورد نظر تحت شرایط کنترل شده که این شرایط را، شرایط آزمایشگاهی می گویند.

۳) دسته سوم

داده های مجزا: فقط یک گستره و فاصله محدود ممکن از داده ها را در بر می گیرند.
داده های پیوسته: داده ها در یک گستره مورد استفاده قرار می گیرند ولی این داده ها مجزا نیستند. بعد از به دست آوردن داده ها، برای استخراج اطلاعات از آنها لازم است از یک مدل استفاده شود تا داده ها برای ما قابل فهم باشند. هنگامی که داده های خام شکل گرفت، بسته به طول مجموعه داده استفاده از یک برنامه کامپیوتری به عنوان یک ضرورت نمایان می شود. اگر مجموعه داده ها طولانی باشد، استفاده از یک کامپیوتر پیشرفته همراه با نرم افزارهای آن لازم و ضروری است. روش های جدید آنالیز ترکیبات در شیمی بر مبنای اسپکتروسکوپی و کمومتریکس است که برای محاسبه خصوصیات فیزیکی ترکیبات توسعه یافته اند. این روش ها شامل اندازه گیری طیفی و تغییر فیزیکی

1 Soft
2 Digital

بوده و از این روش ها، برای اندازه گیری همزمان ترکیبات استفاده می شود. تجزیه ها بر پایه اسپکتروسکوپی و طیف مادون قرمز نزدیک^۱ استوار می باشد. در نهایت گزارش ها با هم مقایسه می شوند و هر زوجی که رابطه بهتری با اشکال مشاهده شده در روش های معمول تجزیه ای دارد مورد استفاده قرار می گیرند. بعلاوه روش های پیشنهادی اغلب ساده تر هستند و می توانند اطلاعات جدید با هزینه کمتری را در اختیار قرار دهند. طیف اسپکتروسکوپی و مادون قرمز نزدیک معمولاً با انطباق گروهی از نوسان ها مشخص می شوند. از لحاظ ظاهری فرق زیادی با سایر طیف ها ندارند، اما آن چه که این طیف ها را متمایز می کند، جایجایی کوچک است که در رأس باندهای جذبی می باشد. براین اساس طیف به طور کامل و اساسی ارزیابی می شود. امروزه با کمک و پشتیبانی کمومتریکس و نرم افزارهای وابسته به آن این مسئله راحت تر شده است. به همین خاطر است که در سال های اخیر تولید نرم افزارهای کمومتریکس از اهمیت بسیاری زیادی برخوردار شده است. نرم افزارهای مورد استفاده، از روش های ریاضی، برای ارزیابی و تفسیر و پردازش، حجم زیادی از داده ها برای طیف های اسپکتروسکوپی و مادون قرمز نزدیک استفاده می شوند و ارتباط آماری بین داده های طیفی و دانسته هایی که از تجزیه های آزمایشگاهی حاصل شده است را به خصوص، برای کالیبراسیون داده ها مد نظر قرار می دهند. اگر ارتباط سیستماتیک باشد به طور کامل از آن برای نمایش مطلوب پارامترها برای نمونه های ناخالص از لحاظ (تشخیص، کیفیت و کمیت) و یا برای پردازش طیف ها و ارزیابی های بعدی مورد استفاده قرار می دهند[۴].

۲-۱-۱-۱ کالیبراسیون^۲ و ارزیابی^۳

به طور کلی ارزیابی داده ها و کالیبراسیون، ارتباط تنگاتنگی با هم دارند و این ارتباط است که حضور روابط ریاضی را با اهمیت تر می کند. همان طور که گفته شد نتایج آزمایش های تجزیه ای بر مبنای اسپکتروسکوپی و مادون قرمز نزدیک حاصل می شود که شامل گستره وسیعی از داده ها و اعداد است که باید بین این اعداد و داده ها ارتباط منطقی با ترکیب مورد نظر حاصل شود به همین خاطر است که از کالیبراسیون برای اطمینان از اعداد به دست آمده استفاده می شود.

۱-۲-۱-۱ انواع کالیبراسیون

کالیبراسیون داده های طیفی از تجزیه یک ترکیب به دو صورت انجام می گیرد:

- 1 Near Infrared
- 2 Calibration
- 3 Validation

۱. کالیبراسیون کلاسیک^۱: اساس آن نمایش ارتباط بین داده ها در یک شرایط معین است. از این روش کالیبراسیون بیشتر برای مواد خالص استفاده می شود.
۲. کالیبراسیون توسعه یافته^۲: از این روش برای پیدا کردن یک تابع کالیبراسیون برای یک جزء مطابق رابطه زیر استفاده می شود [۵]:

$$A_{\lambda} = \log (T / T_{\lambda}) = c \varepsilon_{\lambda} l \quad (1-1)$$

روش مورد نظر براساس انتخاب طول موج های ویژه و ضرایب است که طبق آن یک معادله کالیبراسیون در شرایط ویژه به دست می آید، در اکثر طیف ها بیشتر از یک جزء رفتار جذبی از خود نشان می دهد، بنابراین باندهای جذبی در دامنه طیف دیده می شوند. روش کالیبراسیون پیشرفته بیشتر برپایه تکنیک های کالیبراسیون و معادلات مربوط به آن استوار است که بیشتر تشخیصی و تجربی هستند. در هر حال کیفیت این توزیع کالیبراسیون باید با نمونه های جدید آزمایش شود قبل از این روش از نمونه های تصادفی و مستقل استفاده می شود که به طور کلی ارزیابی نام دارد. روش ها و متدهای متفاوتی جهت ارزیابی داده ها ارائه شده است، گذشته از متفاوت بودن روش های امروزی که بیشترین کاربرد را در کمومتریکس دارند، ارتباط بین کالیبراسیون داده ها و ارزیابی آنها به صورت زیر است [۶]:

الف) ارزیابی و کالیبراسیون همزمان است و ارزیابی از نمونه هایی است که در توصیف جمعیت نمونه نیست.

ب) به دو صورت انجام می شود:

۱) ارزیابی بیرون از جمعیت نمونه کالیبره شده انجام می گیرد یعنی با نمونه های کالیبراسیون انجام نمی گیرد.

۲) ارزیابی داده ها، تعدادی از نمونه های کالیبره شده را تحت پوشش قرار می دهد.

ج) این روش مشابه روش الف است، با این تفاوت که داده های کالیبراسیون از ارزیابی داده ها ناشی می شود.

درست است که کمومتریکس می تواند هم از جنبه کیفی و هم از جنبه کمی مورد استفاده قرار گیرد اما آن چه که این شاخه را متمایز می سازد، بیشتر روش کمی آن است و امروزه اکثر فعالیت های آزمایشگاهی به این روش اختصاص دارد [۲]. هنگامی که می خواهیم از داده های

1 Classic Calibration
2 Developed Calibration

اسپکتروسکوپی، برای تعیین خواص توده محلول یا غلظت ماده موردنظر استفاده نمایم، روش های رگرسیون^۱ چند متغیره بسیار مفید می باشند، چرا که این روش ها دقت محاسبات را بالا می برند. آن چه که یک شیمیست باید در نظر داشته باشد این است که داده های طیفی نه تنها شامل اطلاعات مربوط به گونه مورد نظر است بلکه این داده ها اطلاعات نا مناسب و نویز را نیز شامل می شود یعنی به طور کلی داریم^[۳]:

$$\text{داده} = \text{نویز} + \text{اطلاعات نا مناسب} + \text{اطلاعات مربوط}$$

۱-۲-۲-۱ روش کیفی کالیبراسیون^[۵]

روش پیش کالیبراسیون یا روش بر پایه اخبار و اطلاعات که بیشتر شامل روشهای زیر میباشد.

الف) روش کلاسیک کمترین مربعات^۲ CLS

ب) روش کمترین مربعات^۳ ILS

۱-۲-۳-۱ تکنیک های پایه^۴

ابزار های پایه شامل روش های کالیبراسیون کمی^۵ برای به دست آوردن و دریافت داده های کیفی

است^[۴].

این روش شامل قسمتهای زیر است:

۱) تجزیه جزء اصلی PCA^۶

۲) رگرسیون جزء اصلی PCR^۷

۳) مربعات حداقل جزئی PLS^۸

۴) رگرسیون کمترین مربعات جزئی PLSR^۸

-
- 1 Regression
 - 2 Classic Least Squares
 - 3 Initial Least Squares
 - 4 Factor based methods
 - 5 Principe Component Analyses
 - 6 Principale Component Regression
 - 7 Partial Least Squares
 - 8 Partial Least Squares Regression

این دسته از روش های کالیبراسیون به روش های آنالیز فاکتوری نیز معروف هستند. تجزیه فاکتورها، بر اساس روشهای ریاضی است که می تواند برای ارزیابی دامنه وسیعی از چندین داده مورد استفاده قرار گیرد [5]. آنالیز فاکتوری برای به نظم در آوردن داده ها به یک دسته از داده ها که در یک ماتریس قرار دارند احتیاج دارد. طریقه شکل گیری داده های طیفی برای آنالیز فاکتوری به این صورت است که جذب ها در یک ردیف و طول موج ها در یک ستون ماتریس قرار می گیرند.

| W 1 | sol 1 | sol 2 | sol 3 | | sol x |
|-----|-------|-------|-------|------|-------|
| 215 | a 1 | a 2 | a 3 | | a x |
| 220 | a '1 | a '2 | a '3 | | a 'x |
| 225 | a ''1 | a ''2 | a ''3 | | a ''x |

حال که با روشهای کالیبراسیون چند متغیره آشنا شدیم به جاست قبل از بررسی اصول فاکتورهای آنالیز، کلیاتی در مورد جبر خطی و مقوله بسیار مهم آن یعنی « کمترین مربعات » آورده شود [1].

۱-۲-۱-۴ کمترین مربعات

این روش برای کاهش دادن خطای اندازه گیری مورد استفاده قرار می گیرد. فرض کنید که دو بردار غلظت (X) و جذب (Y) وجود دارد که با هم رابطه خطی دارند. اگر خطای تصادفی وجود نداشته باشد X و Y در یک راستا باشند، طول بردار E حداقل می شود.

$$y = \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{pmatrix} \quad X = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{pmatrix} \quad (2-1)$$

$$E = bx - y$$

$$\|E\|^2 = (bx - y) \cdot (bx - y) = (bx - y)^T \cdot (bx - y)$$

$$\|E\|^2 = bx^T x - bx^T y - by^T x + y^T y = b^2 x^T x - 2bx^T y + y^T y$$

$$b = \frac{x^T y}{x^T x} \quad \frac{dE^2}{db} = 2x^T x b - x^T y = 0 \quad (3-1)$$