

اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو توسط روش‌های کمومتریکس

علی نیازی* و آرزو بشیری فر

اراک - دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک - دانشکده علوم - گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۵/۰۵ تاریخ تصحیح: ۹۵/۰۴/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۱۷

چکیده

اندازه‌گیری همزمان مخلوط نیوفوشین و ویکتوریا بلو توسط روش‌های اسپکتروفتومتری به دلیل همپوشانی طیفی توسط روش‌های کلاسیک کالیبراسیون امکان پذیر نمی‌باشد. به وسیله روش‌های کالیبراسیون چند متغیره مانند روش کم‌ترین مربعات جزئی (PLS) از طریق ایجاد یک مدل کالیبراسیون که شامل مخلوط‌هایی با غلظت‌های مختلف از رنگ‌های مورد اندازه‌گیری در محدوده کالیبراسیون می‌باشد، اندازه‌گیری قابل انجام خواهد بود. تصحیح سیگنال عمودی (OSC) یک تکنیک پیش پردازش مناسب برای حذف اطلاعات نامناسب و غیر مفید، بدون کاهش در توان پیش‌گویی مدل می‌باشد. در این مطالعه، مدل کالیبراسیون برای ۲۵ مخلوط مختلف تهیه شد و طیف جذبی آن‌ها در محدوده طول موج ۴۰۰-۷۰۰ نانومتر ثبت گردید. محدوده کالیبراسیون برای نیوفوشین ۷/۵-۰/۷۵ و برای ویکتوریا بلو ۱۸/۰-۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. در این مطالعه روش‌های PLS و OSC-PLS با روش ساده Doolittle مقایسه و مورد بحث قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: اندازه‌گیری همزمان، اسپکتروفتومتری، کم‌ترین مربعات جزئی، تصحیح سیگنال عمودی، نیوفوشین، ویکتوریا بلو.

۱- مقدمه

روش‌های اسپکتروفتومتری جزء روش‌های تجزیه‌ای سریع، حساس و ارزان قیمت می‌باشد که در دهه‌های اخیر از این روش‌ها برای آنالیزهای کمی سیستم‌های تک جزئی و چند جزئی مورد استفاده‌ی فراوان قرار گرفته است. هم‌چنین با توجه به پیشرفت تکنولوژی و اتصال دستگاه‌های اسپکتروفتومتری به کامپیوتر می‌توان اطلاعات وسیعی را برای هرگونه سیستم آزمایشگاهی ثبت کرد و به طور هم‌زمان در طول موج‌های مختلف اطلاعات تجزیه‌ای را بررسی کرد. در آزمایش‌های اسپکتروفتومتری، غلظت آنالیت مورد آنالیز با در دست داشتن ضریب جذب مولی در طول موج مناسب و حل معادله‌ی بیر به دست می‌آید. اما وقتی به جای استفاده از یک طول موج از چندین طول موج استفاده می‌شود، استفاده از آنالیزهای خطی راه مناسب و موثری برای حل مساله نمی‌باشد [۱ و ۲].

استفاده از روش‌های چند طول موجی به خصوص هنگامی که برای آنالیز چند گونه استفاده می‌شود و یا آنالیز یک‌گونه در بافت‌های پیچیده بسیار مفید خواهد بود. به این منظور استفاده از روش‌های کالیبراسیون چند متغیره به جای روش‌های کالیبراسیون تک متغیره بسیار مفیدتر خواهد بود و باعث افزایش دقت و صحت آنالیزهای مورد نظر می‌شود.

هنگامی که از روش‌های چند متغیره برای آنالیزهای کمی استفاده می‌شود، هم‌پوشانی سیگنال‌ها از جمله مشکلات مورد بحث خواهد بود که این مساله توسط روش‌های کمومتریکس از قبیل کالیبراسیون‌های چند متغیره همانند کمترین مربعات جزئی، هوش‌های مصنوعی و روش‌های بسیار گوناگون کمومتریکس قابل حل خواهد بود.

با رشد و تکامل سریع دستگاه‌های مورد استفاده در شیمی، در هر آزمایش حجم وسیعی از اطلاعات تولید می‌شود. این حجم زیاد داده‌ها، احتیاج به روش‌هایی جهت کاهش داده‌ها، نمایش واضح‌تر و استخراج اطلاعات مفیدتر را افزایش می‌دهد. بدین ترتیب همراه با توسعه و پیشرفت شیمی تجزیه دستگاهی، علوم کامپیوتر و تکنولوژی به عنوان ابزارهای کمکی جهت تسهیل به کار گرفته شدند. به کارگیری ریاضی، آمار پیشرفته و کامپیوتر در شیمی منجر به پیدایش شاخه‌ای جدید به نام کمومتریکس گردید. کمومتریکس به ابزاری مناسب برای آنالیز کمی در همه زمینه‌های شیمی و بخصوص شیمی تجزیه تبدیل شده است. امروزه کمتر آنالیزی را می‌توان یافت که به استفاده از روش‌های ریاضی و آماری در کارهای روزمره خود نیاز پیدا نکند [1][3].

کمومتریکس علمی مربوط به شیمی است که در آن از ریاضیات و آمار برای طراحی یا انتخاب روش‌های بهینه آزمایشگاه، فراهم کردن حداکثر اطلاعات مفید با آنالیز داده‌های شیمیایی و به دست آوردن اطلاعات از سیستم‌های شیمیایی استفاده می‌شود [4]. انجمن بین‌المللی شیمی چنین تعریفی برای این واژه ارائه داده است: کمومتریکس عبارتست از روش‌های ریاضیاتی (جبر خطی)، آماری، گرافیکی یا سمبولیک که به درک بیشتر اطلاعات شیمیایی کمک می‌کند [5].

نیو فوشین و ویکتوریا بلو دو رنگ هستند که در صنایع نساجی برای رنگرزی، در صنایع خودرو برای رنگ آمیزی و صنایع شیمیایی به عنوان رنگ مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به حضور این دو رنگ شیمیایی در نمونه‌های مختلف اندازه‌گیری همزمان این دو رنگ از اهمیت قابل توجهی برخوردار می‌باشد. با توجه به همپوشانی طیفی این دو رنگ در ناحیه مرئی، اندازه‌گیری همزمان این دو رنگ توسط روش‌های کلاسیک امکان‌پذیر نمی‌باشد. لذا در این مطالعه از روش‌های کمومتریکس همانند روش‌های کمترین مربعات جزئی و دولیتل برای آنالیز این رنگ‌ها استفاده شده است.

۲- روش‌های کالیبراسیون چند متغیره

متداول‌ترین روش‌های کالیبراسیون چند متغیره عبارت است از: روش رگرسیون کمترین مربعات کلاسیک (CLS) [6]، رگرسیون کمترین مربعات معکوس (ILS) [7]، رگرسیون اجزای اصلی (PCR) [8] و رگرسیون کمترین مربعات جزئی (

PLS) [7][9]

۱-۲- کالیبراسیون کمترین مربعات جزئی (PLS)

کالیبراسیون کمترین مربعات جزئی یکی از معتبرترین تکنیک‌های رگرسیون است و نسبت به سایر روش‌های کالیبراسیون چند متغیره کارایی بیشتری دارد چون همزمان از داده‌های طیفی و غلظت استفاده می‌کند. این روش یکی از بهترین روش‌های کالیبراسیون چند متغیره به شمار می‌رود [۱۰-۱۵] و در این رگرسیون از الگوریتم کمترین مربعات جزئی غیرخطی چرخشی^۱ (NIPALS) برای محاسبه مستقیم بردارها و مقادیر ویژه طراحی شده است. هر جفت بردار ویژه (سطرها و ستون‌ها) به ترتیب از بزرگترین و کوچک‌ترین یکی پس از دیگری استخراج می‌شود.

۲-۲- کالیبراسیون چند متغیره دولیتل

این متد اولین بار توسط دینگ^۲ و همکارانش در سال ۲۰۰۷ در شیمی به کار برده شده است. روش دولیتل را فاکتور گاوس نیز می‌نامند. الگوریتم دولیتل یک روش آنالیز عددی با دقت بالا، هزینه پایین و محاسبات کم (افزایش سرعت) می‌باشد [۱۶] و [۱۷] و بعنوان یک کالیبراسیون‌های چند متغیره برای محلول‌هایی که شامل ترکیب‌های مختلفی هستند و هم پوشانی طیفی آنها زیاد است به کار می‌رود.

۳-۲- پیش پردازش داده‌ها

پیش‌پردازش داده‌ها یا آماده سازی اطلاعات در همه روش‌های کمومتریکس ضروری است. به عبارتی قبل از وارد کردن اطلاعات از روش‌های پیش پردازش برای بهبود اطلاعات استفاده می‌شود. از متداول‌ترین روش‌های پیش‌پردازش در کالیبراسیون چند متغیره و سه بعدی می‌توان به روش تصحیح سیگنال عمودی^۳ (OSC) اشاره کرد [12].

۴-۲- تصحیح سیگنال عمودی

این روش نخستین بار توسط والد و همکارانش معرفی شده است. این ابزار جهت انجام پیش پردازش برای کالیبراسیون توسط محققان زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سابقه استفاده از این روش به کالیبراسیون در حیطه IR نزدیک بر می‌گردد. هدف اصلی OSC حذف یک یا چندین خطا در راستای تغییرات متغیر وابسته می‌باشد. این روش به عنوان یک روش پیش‌پردازش جهت ارتقاء کارایی کالیبراسیون به کار می‌رود از این رو گروه‌های مختلف دانشمندان الگوریتم‌های متفاوتی را برای کاهش پیچیدگی مدل‌ها و حذف سیگنال‌های اورتوگونال ارائه کرده اند [۲۱-۲۵].

¹ Non-linear iterative partial least squares

² Ding

³Orthogonal signal correction

۲-۵- انتخاب فاکتورهای بهینه در کالیبراسیون

برای انتخاب تعداد فاکتورها در PLS از روش اعتبارسازی دو طرفه استفاده می‌شود. در این مطالعه برای ۲۵ طیف در مرحله کالیبراسیون، یکی از نمونه‌ها کنار گذاشته شده و با ۲۴ طیف و با تعداد مختلف فاکتورها کالیبراسیون انجام می‌شود و از ضریب رگرسیون حاصل برای تخمین غلظت نمونه کنار گذاشته شده استفاده می‌شود. این پروسه ۲۵ بار تکرار می‌شود تا برای هر نمونه یک غلظت تخمین زده شود و سپس غلظت‌های به دست آمده با مقادیر واقعی مقایسه شده و مجموع مربعات خطای پیشگویی^۴ (PRESS) طبق فرمول ذیل محاسبه می‌شود:

$$PRESS = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2$$

که y_i غلظت حقیقی آنالیت در نمونه i و \hat{y}_i غلظت پیش‌گویی شده آنالیت در نمونه i است. می‌توان گفت هنگامی که PRESS حداقل می‌شود تعداد فاکتورهای انتخاب شده بهینه شده است. متأسفانه این تعداد فاکتورهای بهینه (h^*) معمولاً باعث برازش بیش از حد داده^۵ می‌شود به خصوص برای غلظت‌هایی که در ساخت مدل کالیبراسیون از آن‌ها استفاده نشده باشد. معیار بهتر برای انتخاب فاکتورهای بهینه، مقایسه PRESS مدل‌هایی با فاکتورهای کمتر از (h^*) است. برای تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن مقدار PRESS از F-test استفاده می‌شود. هالند و توماس به طور تجربی دریافتند که مقدار F در احتمال ۷۵٪ انتخاب خوبی است. در عمل آن تعداد فاکتورهایی برای PRESS انتخاب می‌شود که مقدار F آن کمتر از ۷۵٪ باشد [۲۶ و ۲۷].

۲-۶- پارامترهای آماری

پارامترهای متعددی برای ارزیابی توانایی پیش‌بینی مدل وجود دارد [۲۸][۱۶] اخیراً برای ارزیابی قابلیت پیش‌گویی یک مدل از RMSEP^۶ [۲۹] و ^۷VRSEP [۳۰] استفاده می‌شود که نشان دهنده خطا در مرحله پیش‌گویی می‌باشند و به صورت زیر نمایش داده می‌شوند:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{x}_i - x_i)^2}{n}}$$

^۴ Prediction error sum of square

^۵ Overfitting

^۶ Root mean square error of prediction

^۷ Relative standard error of prediction

$$RSEP(\%) = 100 \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{x}_i - x_i)^2}{\sum_{i=1}^n (x_i)^2}}$$

۳- بخش تجربی

۳-۱- دستگاه ها و مواد مورد استفاده

میکرو سرنگ همیلتونی ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میکرولیتر جهت برداشتن نمونه، سل استاندارد از جنس کوارتز برای ثبت طیف های جزئی استفاده شده است. دستگاه اسپکتروفتومتر (Agilent, HP-8453) تک پرتوی مجهز به نرم افزار (Chemstation Agilent technology) تحت ویندوز استفاده شده است و جهت سانتیفریوژ نمونه ها از دستگاه سانتیفریوژ (مدل K2802) استفاده گردید. به منظور اندازه گیری pH از pH متر (مدل Metrohm, 691) با الکتروود استاندارد شیشه‌ای استفاده شده است. برای وزن کردن مواد از ترازو (مدل Mettler AE 200) با دقتی معادل ± 0.0001 گرم استفاده شد. نرم افزارهای Excel و MATLAB جهت پردازش داده‌ها و طراحی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. محاسبات OSC-PLS توسط PLS-TOOLBOX انجام شده است.

۳-۲- روش کار برای اندازه گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو

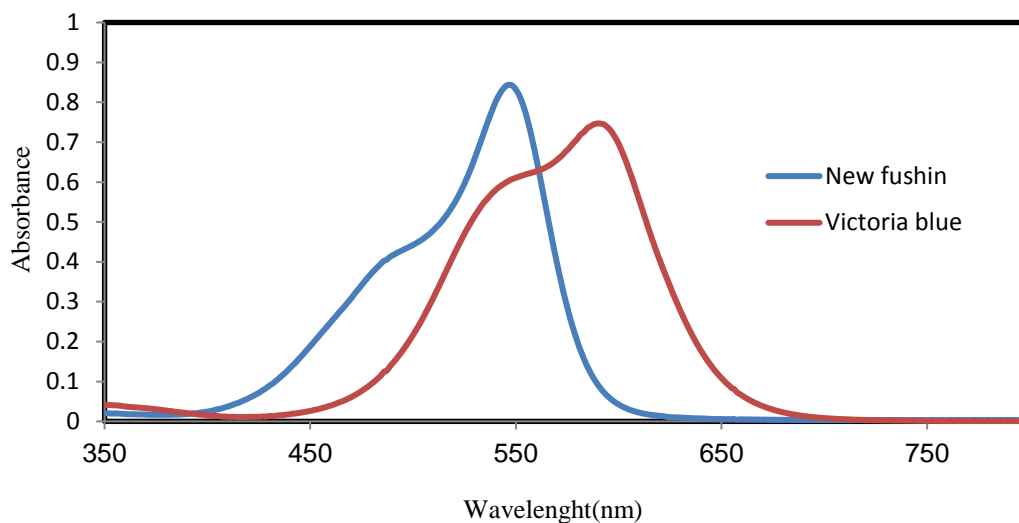
مقادیر مشخصی از محلول های استاندارد در pH های ۱۲-۱ از بافرهای یونیورسال تهیه شد، به گونه ای که غلظت های مختلفی از نیوفوشین و ویکتوریا بلو توسط سرنگ همیلتونی مورد استفاده قرار گرفته و برای بررسی شرایط بهینه، طیف ها در محدوده طول موج ۴۰۰ نانومتر تا ۷۰۰ نانومتر برای نیوفوشین و ویکتوریا بلو مورد مطالعه قرار گرفتند.

۴- بحث و نتیجه گیری

۴-۱- انتخاب شرایط آزمایشگاهی بهینه

۴-۱-۱- انتخاب pH بهینه

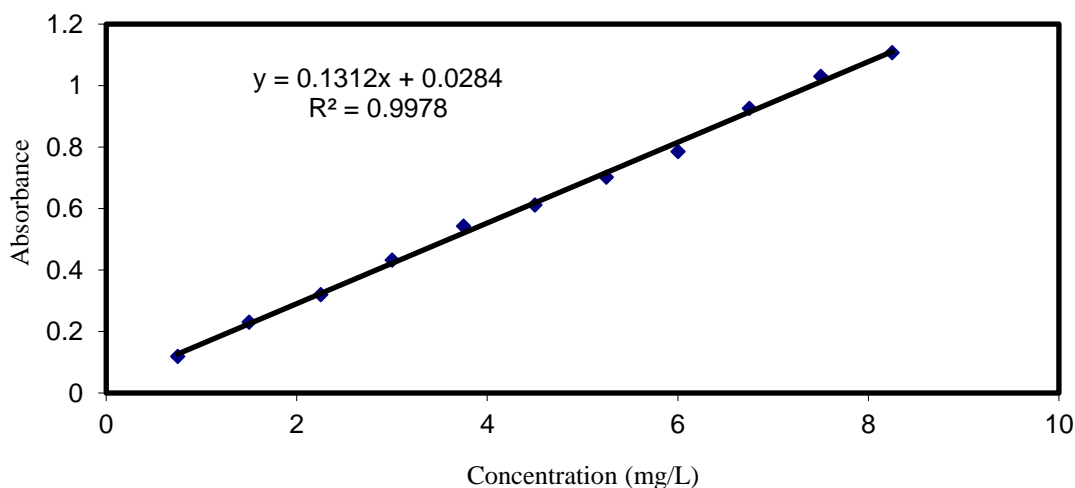
برای یافتن شرایط بهینه، اثر pH روی طیف‌ها در یک غلظت ثابت از نیوفوشین و ویکتوریا بلو بررسی شد. pH بهینه، pH انتخابی است که در آن کمترین هم پوشانی و بیشترین جذب وجود داشته باشد. به همین علت اثر pH محیط روی طیف های جذبی نیوفوشین و ویکتوریا بلو در محدوده (۱-۱۲) pH بررسی شد (شکل ۱) و pH=۶ به عنوان pH بهینه برای تعیین ناحیه خطی انتخاب شد، زیرا در این ناحیه جذب ماکزیمم و هم پوشانی نیز در این pH مینیمم بود.



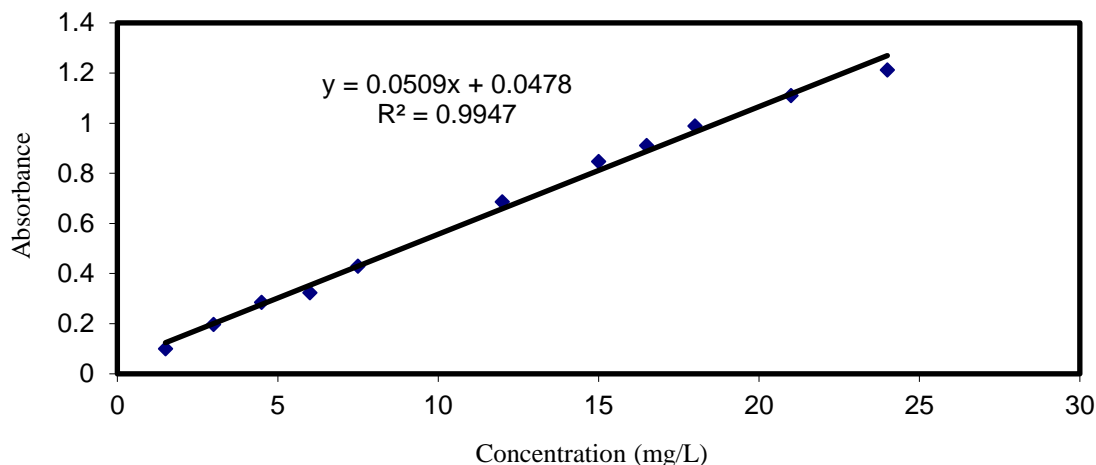
شکل ۱- طیف جذب نیوفوشین (۷ میلی گرم بر لیتر) و ویکتوریا بلو (۱۰ میلی گرم بر لیتر) در pH=۶.

۴-۲- کالیبراسیون خطی تک متغیره

تحت شرایط بهینه به دست آمده در مراحل قبلی منحنی کالیبراسیون تک متغیره بر اساس رسم جذب بر حسب غلظت نمونه- های استاندارد رسم می شود. طول موجهای انتخاب شده برای رسم منحنی های کالیبراسیون تک متغیره برای نیوفوشین ۵۴۷ نانومتر و برای ویکتوریا بلو ۵۹۱ نانومتر می باشد. منحنی کالیبراسیون تک متغیره نیوفوشین و ویکتوریا بلو را به ترتیب در شکل ۲ و شکل ۳ مشاهده می کنید. هم چنین در شکل ها معادله کالیبراسیون و ضریب هم بستگی نشان داده شده است.



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون خطی تک متغیره نیوفوشین $\lambda_{max}=547 \text{ nm}$.



شکل ۳- منحنی کالیبراسیون خطی تک متغیره ویکتوریا بلو $\lambda_{max}=591 \text{ nm}$

۳-۴- کالیبراسیون چند متغیره

در مرحله کالیبراسیون چند متغیره، براساس یک طراحی آزمایش، ۲۵ مخلوط (دوجزیی) برای مرحله کالیبراسیون جدول ۱ تهیه می شود که، پس از ساخت این مدل از آن برای تشخیص یک سری از مخلوط‌های دیگر استفاده می شود که در این مطالعه ۵ مخلوط دو جزیی برای مرحله پیشگویی جدول ۲ بررسی می شوند. جذب مخلوط‌ها در طول موج‌های ۵۹۱ و ۵۴۷ نانومتر برای نیوفوشین و ویکتوریا بلو تحت شرایط بهینه مطابق با روش توضیح داده شده ثبت می شوند. همچنین ۵ مخلوط دو جزیی که با مخلوط‌های مرحله کالیبراسیون یکسان نباشد برای مرحله پیش گویی تهیه شده است جذب این مخلوط‌ها در رنج طول موج ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر و pH بهینه برابر با ۶ ثبت گردید. برای انجام کالیبراسیون چند متغیره کمترین مربعات جزیی، انتخاب تعداد فاکتورهای بهینه از اهمیت قابل توجهی برخوردار می باشد.

جدول ۱. غلظت‌های نیوفوشین و ویکتوریا بلو در مخلوط‌های دو جزیی استفاده شده برای مرحله کالیبراسیون (ppm)

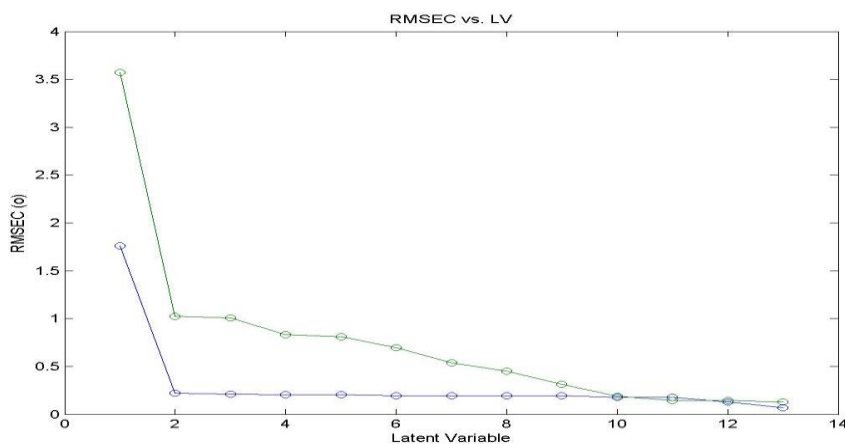
مخلوط	نیوفوشین	ویکتوریا بلو	مخلوط	نیوفوشین	ویکتوریا بلو
M _۱	۰/۷۵	۱/۵	M _{۱۴}	۴/۱	۱۳/۸
M _۲	۰/۷۵	۵/۶	M _{۱۵}	۴/۱	۱۸
M _۳	۰/۷۵	۹/۷	M _{۱۶}	۵/۸	۱/۵
M _۴	۰/۷۵	۱۳/۸	M _{۱۷}	۵/۸	۵/۶
M _۵	۰/۷۵	۱۸	M _{۱۸}	۵/۸	۹/۷
M _۶	۲/۴	۱/۵	M _{۱۹}	۵/۸	۱۳/۸
M _۷	۲/۴	۵/۶	M _{۲۰}	۵/۸	۱۸
M _۸	۲/۴	۹/۷	M _{۲۱}	۶/۵	۱/۵
M _۹	۲/۴	۱۳/۸	M _{۲۲}	۶/۵	۵/۶
M _{۱۰}	۲/۴	۱۸	M _{۲۳}	۶/۵	۹/۷
M _{۱۱}	۴/۱	۱/۵	M _{۲۴}	۶/۵	۱۳/۸
M _{۱۲}	۴/۱	۵/۶	M _{۲۵}	۶/۵	۱۸
M _{۱۳}	۴/۱	۹/۷			

جدول ۲. غلظت های نیوفوشین و ویکتوریا بلو در مخلوطهای دو جزئی استفاده شده برای مرحله پیش گویی (ppm)

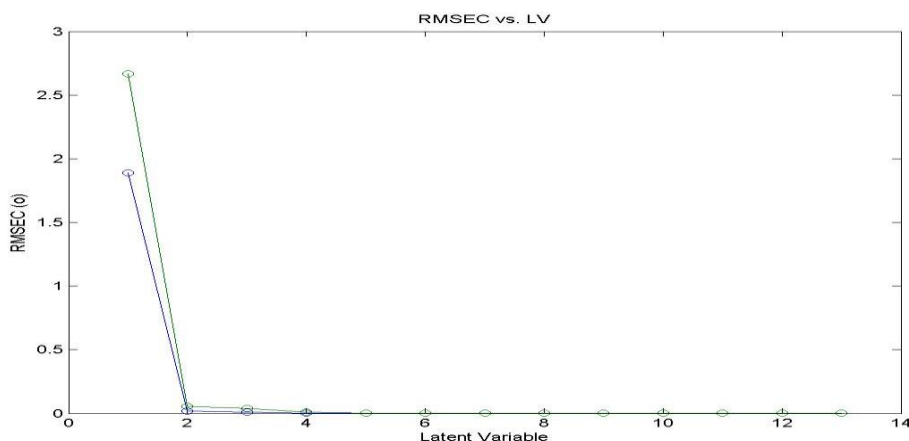
مخلوط	نیوفوشین	ویکتوریا بلو	مخلوط	نیوفوشین	ویکتوریا بلو
M _۱	۱/۵	۶/۵	M _۴	۷/۰	۳/۵
M _۲	۳/۰	۳/۵	M _۵	۷/۰	۷/۶
M _۳	۶/۰	۱۶/۰	M _۶		

۴-۳-۱- انتخاب تعداد فاکتورهای بهینه

همانطور که به این نکته اشاره شد، در روش‌های چند متغیره مانند PLS تعیین تعداد فاکتور یکی از مراحل تعیین کننده کالیبراسیون می باشد. برای این منظور از روش اعتبارسازی دو طرفه استفاده نموده و براساس PRESS محاسبه شده تعداد فاکتور بهینه محاسبه می شود. مقادیر PRESS در حذف تعداد فاکتورها نمایش داده شده است. همان گونه که در شکل ۴ و شکل ۵ نشان داده شده است هنگامی که از پیش پردازش OSC استفاده می شود مقادیر PRESS در فاکتور ۲ مینیمم می باشد. بنابراین وقتی از مدل OSC-PLS استفاده می‌شود، مدل سازی توسط فاکتورهای کمتری صورت می پذیرد.



شکل ۴- نمودار PRESS بدون پیش پردازش.

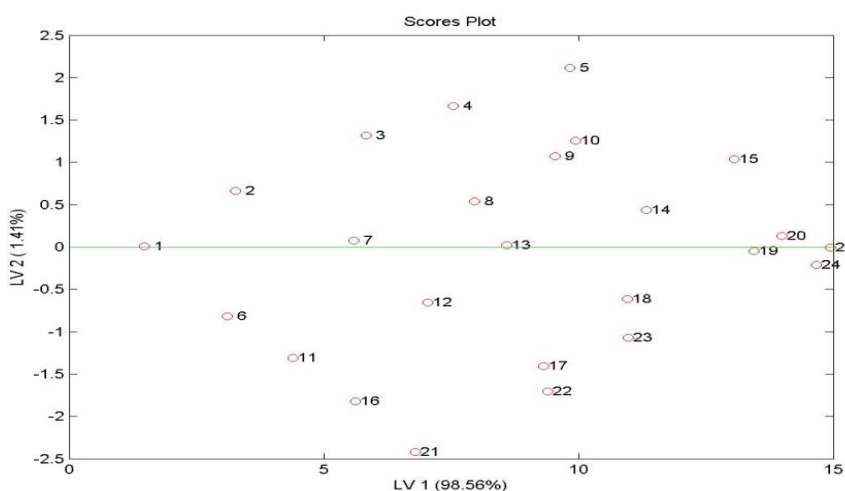


شکل ۵- نمودار PRESS با پیش پردازش OSC.

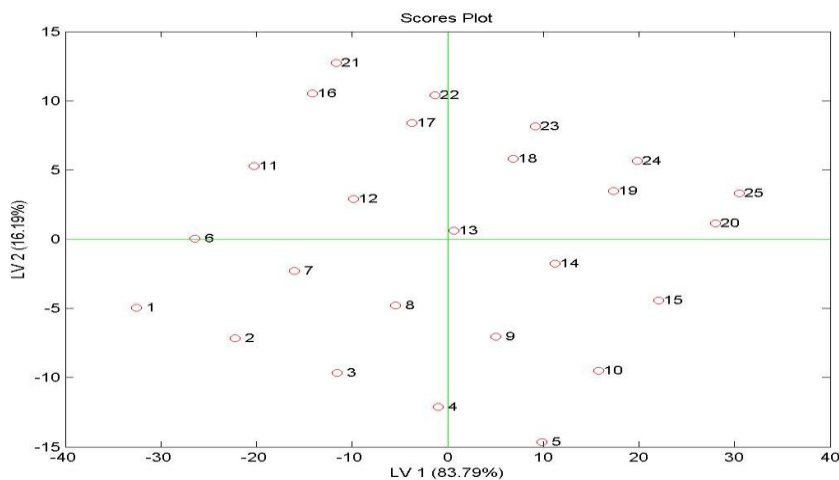
۴-۳-۲- پیش پردازش توسط تصحیح سیگنال عمودی (OSC)

همانطور که در قسمت بالا گفته شد، تصحیح سیگنال‌های عمودی OSC یک تکنیک پیش پردازش به کار برده شده برای حذف اطلاعاتی می باشد که وابستگی به متغیرهای مستقل ندارند که این عمل براساس آنالیز فاکتورهای اصلی انجام می شود. OSC یک روش پیش پردازش مناسب برای کالیبراسیون PLS، در اندازه‌گیری مخلوط‌ها با توانایی بالا و با استفاده از داده های جذبی می باشد. هنگامی که از OSC به عنوان پیش پردازش استفاده می شود باعث می شود که کالیبراسیون با تعداد فاکتورهای کم تر صورت پذیرد.

هم چنین نتایج به دست آمده از روش OSC نشان دهنده این است که روابط غیرخطی بین غلظت و جذب حذف شده است، به عبارتی استفاده از پیش‌پردازش OSC، نویزهای عمود بر سیستم را حذف می کند. در شکل ۶ و شکل ۷ منحنی اسکورها هنگامی که از PLS و OSC-PLS استفاده شده، نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می گردد وقتی از OSC-PLS استفاده می‌گردد، الگوی تغییرات اسکور شبیه به الگوی تغییرات غلظت می‌باشد.



شکل ۶- نمودارهای مؤلفه اصلی اول در مقابل مؤلفه اصلی دوم با استفاده از مدل PLS بدون پیش پردازش.



شکل ۷- نمودارهای مؤلفه اصلی اول در مقابل مؤلفه اصلی دوم با استفاده از مدل PLS با پیش پردازش OSC.

۴-۴- اندازه‌گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو در نمونه‌های سنتزی

با توجه به کالیبراسیون به دست آمده و برای نشان دادن توانایی، مدل تهیه شده بر روی چندین نمونه سنتزی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج بدست آمده برای اندازه‌گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو با استفاده از روشهای PLS و OSC-PLS در جدول ۳ و جدول ۴ نشان داده شده است. پارامترهای آماری حاصل از نتایج برای نمونه‌ها محاسبه شده است. نتایج مربوط به روش دولیتل در جدول ۵ ارائه شده است که با روشهای PLS و OSC-PLS قابل مقایسه می باشد.

جدول ۳. نتایج به دست آمده در نمونه های سنتزی مربوط نیوفوشین و ویکتوریا بلو با PLS.

	Added (ppm)		Founded (ppm)		Recovery (%)	
	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue
	۱/۵	۶/۵	۱/۳	۶/۶	۹۰/۰	۱۰۲/۰
	۳/۰	۳/۵	۲/۷	۳/۶	۹۳/۰	۱۰۳/۷
	۶/۰	۱۶/۰	۵/۸	۱۵/۳	۹۷/۸	۹۶/۰
	۷/۰	۳/۵	۷/۱	۳/۳	۱۰۱/۷	۹۵/۷
	۷/۰	۷/۶	۷/۲	۷/۱	۱۰۳/۴	۹۴/۶
N.F.			۲/۰	۹/۰		
PRESS			۰/۲۱۸۷	۰/۱۹۱۵		
RMSEP			۰/۱۷۶۳	۰/۳۵۶۰		
RSEP (%)			۳/۲۵۰۴	۴/۲۲۰۱		

جدول ۴. نتایج به دست آمده در نمونه های سنتزی مربوط نیوفوشین و ویکتوریا بلو با OSC-PLS.

	Added (ppm)		Founded (ppm)		Recovery (%)	
	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue
	۱/۵	۶/۵	۱/۴	۶/۴	۹۸/۶	۹۹/۶
	۳/۰	۳/۵	۲/۹	۳/۵	۹۸/۶	۱۰۱/۱
	۶/۰	۱۶/۰	۵/۹	۱۶/۰	۹۸/۸	۱۰۰/۵
	۷/۰	۵/۳	۷/۰	۳/۴	۱۰۰/۱	۹۹/۴
	۷/۰	۷/۶	۷/۰	۷/۶	۱۰۰/۷	۱۰۰/۳
N.F.			۲	۲		
PRESS			۰/۰۱۹۷	۰/۰۵۶۹		
RMSEP			۰/۰۴۳۵	۰/۰۴۷۷		
RSEP (%)			۰/۸۱۱۳	۰/۵۴۵۰		

جدول ۵. نتایج به دست آمده در نمونه های سنتزی مربوط نیوفوشین و ویکتوریا بلو با Doolittle.

	Added (ppm)		Founded (ppm)		Recovery (%)	
	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue
	۱/۵	۶/۵	۱/۴	۶/۳	۹۷/۳	۹۸/۳
	۳/۰	۳/۵	۲/۸	۳/۵	۹۴/۶	۱۰۱/۷
	۶/۰	۱۶/۰	۵/۷	۱۶/۲	۹۶/۰	۱۰۰/۴
	۷/۰	۵/۳	۷/۱	۳/۷	۱۰۱/۷	۱۰۶/۰
	۷/۰	۷/۶	۷/۰	۷/۶	۱۰۰/۵	۱۰۰/۶
N.F.			۲	۲		
RMSEP			۰/۱۴۱۹	۰/۱۵۱۷		
RSEP (%)			۲/۶۴۹۰	۱/۷۲۰۴		

۴-۵- نتایج مربوط به اندازه گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو در نمونه‌های حقیقی

مقایسه نتایج حاصل از جدول ۳ □ جدول ۴ و جدول ۵ نشان دهنده این است که مدل OSC-PLS دارای مقادیر RMSEP

قابل قبولی است بنابراین برای اندازه گیری نیوفوشین و ویکتوریا بلو در نمونه های حقیقی از مدل OSC-PLS استفاده شد.

برای این منظور نمونه پساب را انتخاب کردیم. پس از افزودن نیوفوشین و ویکتوریا بلو در چند مرحله اندازه گیری را انجام دادیم. برای بررسی دقت روش، انحراف استاندارد (RSD) محاسبه شده است. نتایج به دست آمده در جدول ۶ نشان داده شده است.

جدول ۶. نتایج مربوط به نمونه حقیقی (میلی گرم بر لیتر) با استفاده از مدل OSC-PLS.

	Spiked (ppm)		Founded ^a (mg/L)		Recovery (%)	
	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue	New fushin	Victoria blue
well water	.	.	N.D	N.D ^c	-	-
Waste water	۱/۵	۳/۰	۱/۶۸ ± ۰/۰۸	۳/۱۴ ± ۰/۰۷	۱۱۲/۰	۱۰۴/۶
water	.	.	۳/۴۷ ± ۰/۰۴	۶/۵۱ ± ۰/۰۶	-	-
	۶/۰	۱۲/۰	۱۰/۱۹ ± ۰/۰۹	۱۹/۳۱ ± ۰/۰۹	۱۲۴/۰	۱۰۶/۶

^a Mean ± S.D., n = ۳/۰
^b Water samples were collected from Arak, Iran.
^c Not detected.

۴-۶- نتیجه گیری

یک روش جدید برای اندازه گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو با استفاده از تکنیک اسپکتروفتومتری UV-Visible و با استفاده از روش کالیبراسیون چند متغیره دولیتل (DMSA) و روش کمترین مربعات جزئی (PLS) و با پیش پردازش تصحیح سیگنال‌های عمودی (OSC) ارائه شده است. با توجه به طیف های جذبی و به دلیل هم پوشانی فراوان، اندازه گیری همزمان این گونه ها توسط روش های کلاسیک امکان پذیر نمی باشد. در این بررسی یک روش ساده، حساس، ارزان قیمت و غیر آلوده کننده برای اندازه گیری همزمان نیوفوشین و ویکتوریا بلو ارائه شده که در آن تمام پارامترهای موثر بررسی و بهینه شدند. مقایسه نتایج سه روش نشان دهنده این است که مدل OSC-PLS دارای نتایج مطلوب تری می باشد. مقادیر RMSEP توسط روش OSC-PLS برای نیوفوشین و ویکتوریا بلو بترتیب ۰/۰۴۳۵ و ۰/۰۴۷۷ بدست آمده است. همچنین حد تشخیص این روش برای نیوفوشین و ویکتوریا بلو بترتیب ۰/۲۱۴ و ۰/۴۷۷ می باشد و در نهایت از این روش برای اندازه گیری نیوفوشین و ویکتوریا بلو در نمونه های حقیقی استفاده شده که نتایج قابل قبول می باشد.

مراجع

- [1] D. T. Sawyer, W. R. Heneman, J. M. Beebe, *Chemistry Experiments for Instrumental Methods*, John Wiley, New York, 1984.
- [2] M. J. Ahmed, S. Banoo, *Talanta*, **48** (1999) 1085.
- [3] J. W. Einax, H. W. Zwanzier, S. Gibe, *Chemometrics in Environment Analysis*, John Wiley, (1997).
- [4] D. L. Massart, B. G. M. vandeginste, L. M. C. Buydens, S. D. Jone, P. J. Lewi, J. Smeyers, *Handbook Of Chemometrics and Qualimetrics, Part B*, Elsevier Science, Amsterdam, 1997.

- [5] D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, L. M. C. Buydens, S. D. Jone, P. J. Lewi, J. Smeyers, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part B, Elsevier Science, Amsterdam*, 1997.
- [6] J. E. Jackson, G. S. Mudholkar, *Technometrics*, **21** (1979) 3.
- [7] J. E. Jackson, "A User's Guide to Principal Components," John Wiley, New York, 1991.
- [8] E. V. Thomas, D. M. Haaland, *Anal. Chem.* **62**, 1091 (1990).
- [9] M. Otto, J. Fresenius. *Anal. Chem.*, **359** (1997) 123.
- [10] Y. Ding, T. MU, Q. W, S-Si, *Chemometr. Intell. Lab.*, **88** (2007) 167.
- [11] Y. Meili, D. Yaping, W. Qingsheng, *J. Iran. Chem. Res.*, **2** (2009) 33.
- [12] R. G. Brereton, *Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*, John wiley Chichester, 2003.
- [13] M. Barker, W. Rayens. *J. Chemom.*, **17** (2003) 166.
- [14] D. M. Haaland, E.V. Thomas, *Anal. Chem.*, **60** (1988) 1193.
- [15] M. J. R. Stone, *Stat. Soc.*, **36** (1974) 111.
- [16] J. Ghasemi, R. Amini, A. Niazi, *Anal. Lett.*, **35** (2002) 533.
- [17] R. Szostak, S. Mazurek, *Analyst*, **127** (2002) 144.
- [18] K. Wiberg, A. S. Molin, S. P. Jacobosson, *Talanta*, **62** (2004) 567.
- [19] S. Wold, H. Antti, F. Lindgren, J. Ohman. *Chemom. Intel. Lab. Sys.*, **44** (1998)175.
- [20] P. Geladi, B. R. Kowalski. *Anal. Chim. Acta.*, **185**, (1986) 1.
- [21] M. K. D. Rambo, E. P. Amorim, M. M. C. Ferreira. *Anal. Chim. Acta.*, **775** (2013) 41.
- [22] A. Tres, C. Ruiz-Samblas, G. van der Veer, S. M. van Ruth. *Food Chem.*, **137**, (2013) 142.
- [23] A. Niazi, N. Khorshidi, P. Ghaemmaghami. *Spectrochim. Acta A.*, **35** (2015) 69.
- [24] Ch. Zhao, F. Wang, F. Gao. *Chemom. Intel. Lab. Sys.*, **95** (2009)107.
- [25] T. Fearn. *Chemom. Intel. Lab. Sys.*, **50** (2000) 47.
- [26] F. Bagheban-Shahri, A. Niazi. *J. Water Reuse Desal.*, **6** (2016) 137.
- [27] T. Momeni-Isfahani, A. Niazi. *Spectrochim. Acta A.*, **120** (2014) 630.
- [28] R. G. Brereton. *Analyst*, **125** (2000) 2125.
- [29] E. Kurniawati, A. Rohman, K. Triyana. *Meat Sci.*, **96** (2014) 94.
- [30] A. Akrami, A. Niazi, F. Bagheban-Shahri. *J. Chem. Health Risk.*, **2** (2012) 33.

