



دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

گرایش شیمی تجزیه

اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری آسکوربیک اسید بر اساس اثر  
بازداری آن بر واکنش متیل رد با برومات و  
اندازه گیری همزمان مس (II) کبالت (II) به روش اسپکتروفتومتری با  
استفاده از کالیبراسیون چند متغیره PLS

نگارش:

عطیه اکبریان

استاد راهنما:

دکتر قدمعلی باقریان

استاد مشاور:

دکتر منصور عرب چم‌جنگلی

زمستان ۱۳۸۶

تقدیم به:

پدر عزیزم

به تنها خورشید حیات بخش زندگانیم

به او که برای تحقق خواسته‌ها و آرزوهایم هستی خود را فدا کرد  
و صبرش بر آنچه گذشت واژه سپاس را تحقیر کرد.

روح مادرم

به او که در سخت‌ترین لحظات زندگی ام تنها جای خالی‌اش را  
نظاره‌گر بودم.

## خواهر و برادران مهربانم ریحانه، علیرضا و مسعود

ان لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق

### تشکر و قدردانی

پروردگارا سر به آستان درگهت به شکرگزاری می‌سایم که توفیق علم آموزی را به من عطا کردی تا از وجود علمی و معنوی اساتید محترم بهره مند شوم. اکنون که این دوره کوتاه اما سراسر خاطره را به پایان می‌رسانم، هر چند واژه‌ها را یارای آن نیست اما صمیمانه‌ترین سپاسگزاری را به حضور

-استاد ارجمندم جناب آقای دکتر قدمعلی باقریان دهقی که با صبر و حوصله فراوان راهنمایی این پروژه را برعهده داشتند.

-استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر منصورعرب چم‌جنگلی که با راهنمایی‌ها و پیشنهادات

ارزنده‌شان مرا یاری دادند و مشاوره پروژه را پذیرفتند.

-استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر گودرزی که همواره مشوق و راهنمایم بودند و برایم یک الگوی علمی و اخلاقی است.

-اساتید داور، آقای دکتر بهرام بهرامیان و آقای دکتر ناصرگودرزی که زحمت مطالعه و داوری پایان‌نامه را پذیرفتند.

-کارشناسان محترم آزمایشگاه آقایان کلی، قربانیان و سرکار خانم برنجی. که از هیچ کوششی دریغ نورزیدند.

-کارمندان محترم دانشکده شیمی آقای وحدتی و آقای سرخابی به خاطر زحمات خالصانه و بی دریغشان.

-دوستانم که همواره در کنار من بودند و برایم خطرات خوب و فراموش نشدنی را به یادگار گذاشتند.

تقدیم می کنم.

## چکیده

در قسمت اول این پروژه یک روش ساده، حساس و جدید سینتیکی - اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری اسید آسکوربیک در نمونه های حقیقی و آب ارائه شده است. این روش بر اساس اثر بازداری اسید آسکوربیک بر سیستم سدیم برومات با متیل رد است. زمان القائی و واکنش متناسب با غلظت اسید آسکوربیک است. بی رنگ شدن متیل رد به وسیله محصولات واکنش برای دنبال کردن واکنش به صورت اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۴ نانومتر استفاده شده است. دامنه خطی روش ۰/۲-۳/۸ میکرو گرم بر میلی لیتر و حد تشخیص روش ۰/۱ میکرو گرم بر میلی لیتر است. انحراف استاندارد نسبی برای ده اندازه گیری تکراری در غلظت های ۱/۶، ۲/۶ و ۳/۶ میکرو گرم بر میلی لیتر اسید آسکوربیک به ترتیب ۱/۵۵، ۰/۹۶ و ۲/۸٪ می باشد. این روش به طور موفقیت آمیزی برای اندازه گیری اسید آسکوربیک در نمونه های قرص و آب به کار گرفته شده است.

لغات کلیدی: اسید آسکوربیک، متیل رد، اسپکتروفتومتری، سدیم برومات، سینتیکی

## چکیده

در قسمت دوم این پروژه یک روش اسپکتروفتومتری ساده و حساس برای اندازه گیری همزمان کبالت (II) و مس (II) پیشنهاد شده است. روش بر اساس تشکیل کمپلکس های مس (II) و کبالت (II) با ۴- (۲-پیریدیل آزو) رزورسینول است. تمامی پارامترهای موثر بر حساسیت روش بهینه شدند. داده های کالیبراسیون (۲۴

نمونه) و پیشگویی (۱۰ نمونه) به وسیله اندازه گیری جذب محلول های شامل مس (II) و کبالت (II) به دست آمدند. نتایج حاصله با به کار بردن روش حد اقل مربعات جزئی بر پایه تجزیه مقدار مجرد و از طریق کالیبراسیون چند متغیره و با پیش پردازش داده ها به وسیله میانگین گیری نسبی از طیف ها مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین نتایج با استفاده از میانگیری مرکزی و بدون استفاده از آن از لحاظ آماری مقایسه شدند. حد تشخیص برای کبالت (II) و مس (II) به ترتیب ۰/۰۵۰ و ۰/۰۳۱۸ میکرو گرم بر میلی لیتر است. انحراف استاندارد نسبی برای شش اندازه گیری تکراری برای غلظت های ۱/۳ میکرو گرم بر میلی لیتر مس (II) و ۱/۰ میکرو گرم بر میلی لیتر کبالت (II) برابر ۱/۸۳ و ۱/۸۶٪ به دست آمدند. روش با موفقیت برای اندازه گیری همزمان مس (II) و کبالت (II) در نمونه آب شهر شاهرود و آلیاژ مورد استفاده قرار گرفت. در صد بازیابی برای مس (II) ۱۰۳/۰-۱۰۰/۴٪ و برای کبالت (II) ۱۰۶/۴-۰/۹۶٪ به دست آمد.

لغات کلیدی : مس (II)، کبالت (II)، حداقل مربعات جزئی، تجزیه مقدار مجرد، میانگین گیری مرکزی، اسپکتروفتومتری

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱-Error! Bookmark not defined.	فصل اول
۱-Error! Bookmark not defined.	مقدمه
۳	۱-۱- اسید آسکوربیک.....
۳	۱-۱-۱- نقش اسید آسکوربیک در بدن.....
۳	۱-۱-۲- مروری بر کار های انجام شده روی اسید آسکوربیک.....
۹	۱-۲- کبالت.....
۱۰	۱-۲-۱- کاربردهای کبالت:.....
۱۰	۱-۲-۲- نقش بیولوژیکی.....
۱۱	۱-۳- مس.....
۱۲	۱-۳-۱- کاربردهای مس.....
۱۳	۱-۳-۲- نقش بیولوژیکی مس.....
۱۳	۱-۳-۳- مروری بر کارهای انجام شده روی اندازه گیری همزمان مس و کبالت.....
۱۸	فصل دوم.....
۱۸	مقدمه ای بر روشهای تجزیه شیمیایی.....



۳۹	۱-۱-۲-۱۰- عوامل موثر بر سرعت واکنشها		
۳۹	۱-۱۰-۱-۲- اثر دما		
۴۰	۲-۱۰-۱-۲- اثر غلظت واکنشگرها		
۴۰	۳-۱۰-۱-۲- اثر حلال		
۴۰	۴-۱۰-۱-۲- اثر قدرت یونی		
۴۲	۲-۲- مقدمه		
۴۳	۱-۲-۲- کالیبراسیون		
۴۴	۱-۱-۲-۲- کالیبراسیون یک متغیره:		
۴۴	۲-۱-۲-۲- کالیبراسیون چند متغیره:		
۴۷	۲-۲-۲- طبقه بندی روشهای کالیبراسیون		
۴۷	۱-۲-۲-۲- آنالیز جزء اصلی		
۵۰	۲-۲-۲-۲- رگرسیون اجزاء اصلی		
۵۱	۳-۲-۲-۲- کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی (PLS)		
۵۱	۳-۲-۲-۲- الف- کالیبراسیون PLS 1		
۵۳	۳-۲-۲-۲- ب- NIPALS		
۵۵	۴-۲-۲-۲- انتخاب تعداد فاکتور بهینه:		
۵۶	۴-۲-۲-۲- الف- روش ارزیابی تقاطعی:		
۵۶	۴-۲-۲-۲- ب- مجموع مربعات خطا PRESS برای دادههای ارزیابی:		
۵۶	۵-۲-۲-۲- پارامترهای آماری:		
۵۷	۶-۲-۲-۲- اصول نظری میانگین گیری مرکزی:		
۵۹	۶-۲-۲-۲- الف- خواص میانگین گیری مرکزی:		
۵۹	۶-۲-۲-۲- ب- مزایای MC:		
۶۰	فصل سوم		
۶۰	بخش تجربی		
۶۰	۱-۳- اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری آسکوربیک اسید بر اساس اثر بازداری آن در واکنش برومات با متیل رد		
۶۰	۱-۱-۳- مواد شیمیایی مورد نیاز		
مورد	تهیه	محلولهای	۲-۱-۳-
۶۱	استفاده	۶۱	
۶۱	۳-۱-۳- دستگاه های مورد استفاده		
۶۱	۴-۱-۳- رسم طیف جذبی برای تعیین طول موج و نشان دادن اثر بازداری آسکوربیک اسید		



- کار.....۶۲
- ۳-۱-۶- بررسی پارامتر ها و بهینه سازی متغیر های موثر بر واکنش.....۶۴
- ۳-۱-۷- بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید .....۶۴
- ۳-۱-۸- بررسی اثر غلظت سدیم برومات .....۶۶
- ۳-۱-۹- بررسی غلظت متیل رد .....۶۸
- ۳-۱-۱۰- بررسی اثر دما .....۶۸
- ۳-۱-۱۱- بررسی اثر قدرت یونی .....۷۱
- ۳-۱-۱۲- شرایط بهینه .....۷۳
- ۳-۱-۱۴- روش پیشنهادی برای اندازه گیری آسکوربیک اسید .....۷۴
- ۳-۱-۱۵- دقت و صحت روش .....۷۶
- ۳-۱-۱۶- حد تشخیص .....۷۷
- ۳-۱-۱۷- بررسی مزاحمتها .....۷۷
- ۳-۱-۱۸- کاربرد روش در تجزیه نمونه های حقیقی .....۷۸
- ۳-۲- اندازه گیری همزمان کبالت و مس به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از روش کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی (PLS).....۸۱
- ۳-۲-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز .....۸۱
- ۳-۲-۲- تهیه محلولهای مادر .....۸۱
- ۳-۲-۳- دستگاه های مورد استفاده.....۸۲
- ۳-۲-۴- رسم طیف جذبی .....۸۲
- ۳-۲-۵- روش کاردر بهینه سازی پارامتر ها: .....۸۳
- ۳-۲-۶- بررسی پارامترها و بهینه کردن شرایط واکنش: .....۸۴
- ۳-۲-۷- بررسی اثر غلظت اسید نیتریک .....۸۴
- ۳-۲-۸- بررسی اثر غلظت ۴- (۲-پیریدیل آزو) رزورسینول (PAR): .....۸۶
- ۳-۲-۹- بررسی اثر قدرت یونی .....۸۸
- ۳-۲-۱۰- شرایط بهینه .....۹۰
- ۳-۲-۱۱- رسم منحنی کالیبراسیون (کالیبراسیون یک متغیره) .....۹۰
- ۳-۱۱-۱- رسم منحنی کالیبراسیون مس .....۹۰
- ۳-۱۱-۲- رسم منحنی کالیبراسیون کبالت: .....۹۲

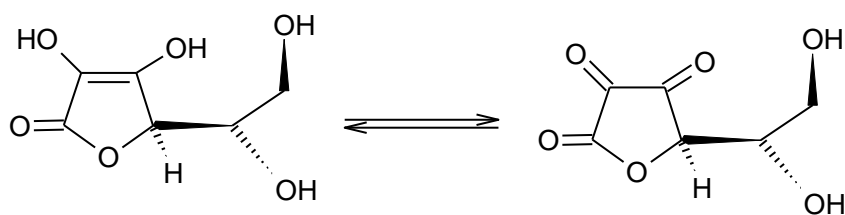
- ۳-۱۱-۲-۳- رسم منحنی کالیبراسیون مس در حضور کبالت ..... ۹۴
- ۳-۱۱-۲-۴- رسم منحنی کالیبراسیون کبالت در حضور مس ..... ۹۶
- ۳-۲-۱۲- کالیبراسیون چند متغیره: ..... ۹۷
- ۳-۲-۱۲-۱- طراحی آزمایش ..... ۹۷
- ۳-۲-۱۲-۲- رگرسیون حداقل مربعات جزئی ..... ۹۸
- ۳-۲-۱۲-۲-ب: رگرسیون حداقل مربعات جزئی به روش MC-PLS ..... ۱۰۴
- ۳-۲-۱۳- ارزیابی آماری و مدل‌های ساخته شده ..... ۱۰۸
- ۳-۲-۱۴- بررسی اثر مزاحمتها ..... ۱۰۸
- ۳-۲-۱۵- حد
- تشخیص ..... ۱۰۸
- ۳-۲-۱۶- دقت و صحت روش: ..... ۱۰۹
- ۳-۲-۱۷- کاربرد روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی: ..... ۱۱۰
- فصل چهارم ..... ۱۱۲
- بحث ونتیجه گیری ..... ۱۱۲
- ۴-۱-۱- اثر بازداری اسید آسکوربیک بر اکسایش متیل رد توسط برومات ..... ۱۱۲
- ۴-۱-۱-۱- نتایج حال از بهینه سازی شرایط ..... ۱۱۳
- ۴-۱-۲- ارقام شایستگی روش ..... ۱۱۴
- ۴-۱-۳- تجزیه نمونه های حقیقی و دارویی ..... ۱۱۵
- ۴-۱-۴- مقایسه روش با برخی از روشهای موجود در اندازه گیری غلظت اسید آسکوربیک ..... ۱۱۵
- ۴-۲- اندازه گیری همزمان کبالت و مس به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از کالیبراسیون چند متغیره PLS ..... ۱۱۶
- ۴-۲-۱- بررسی پارامترها و بهینه سازی شرایط ..... ۱۱۸
- ۴-۲-۲- منحنی های کالیبراسیون ..... ۱۱۹
- ۴-۲-۳- ارزیابی آماری مدل ساخته شده ..... ۱۱۹
- ۴-۲-۴- گزینش پذیری روش ..... ۱۱۹
- ۴-۲-۵- کاربرد روش در نمونه های حقیقی
- ..... ۱۱۹

# فصل اول

## مقدمه

### ۱-۱- اسید آسکوربیک

ویتامین ث یا اسید آسکوربیک در سال ۱۹۲۸ کشف شد و سومین ترکیب از گروه ویتامینها بود که دانشمندان آنرا شناختند. به همین دلیل بعد از آ و ب حرف سوم الفبای انگلیسی برای نامگذاری آن انتخاب شد. خواص شیمیایی و فیزیکی اسید آسکوربیک در جدول (۱-۱) آورده شده است [۱ و ۲]. مهمترین خاصیت شیمیایی L-اسید آسکوربیک اکسایش برگشت پذیر آن به دی هیدرو L-اسید آسکوربیک<sup>۱</sup> است، که اساس فعالیتهای فیزیولوژیکی، پایداری و کاربرد های تکنیکی این اسید شناخته شده است [۱].



کلاژن<sup>۲</sup> یک نوع ماده پروتئینی است که سبب اتصال بافتها به یکدیگر میشود و جزء اصلی سازنده پوست، غضروف، استخوان، دندان و جای زخم است. سنتز این ماده تحت اثر کاتالیزوری اسید آسکوربیک است، که شامل هیدروکسیلاسیون آنزیمی پیرولین<sup>۳</sup> و لیزین<sup>۴</sup> می باشد. بنابراین کمبود یا فقدان اسید آسکوربیک به علت اختلال در سنتز کلاژن سبب ضعف غشاء مویرگها، خونریزیهای مویرگی، التیام دیر هنگام زخم ها و کاهش بافت استخوان میشود [۳].

علائم کلینیکی آسکوروی<sup>۵</sup> ( بیماری ناشی از کمبود یا فقدان ویتامین ث) به سنتز کلاژن نسبت داده میشود، که این علائم شامل موارد زیر است [۱]:

۱- تضعیف بافت همبند استخوانها و عضلات

۲- زخم و خونریزی از لثه ها و کبودیها

۳- شکننده و پرمغذ شدن استخوانها و عضلات

۴- تحت تاثیر قراردادن دیواره های دستگاه گردش خون

جدول ۱-۱- خواص فیزیکی و شیمیایی اسید آسکوربیک [۲۱]

اسید آسکوربیک	خاصیت
$C_6H_8O_6$	فرمول
جامد کریستالی با طعم اسیدی - سفید و بی بو	فرم ظاهری
۱۷۶/۱۳	وزن مولکولی
۸۵۵/۰	نقطه جوش $^{\circ}C$

- 1-Collagen
- 2-Proline
- 3-Lysin
- 4-Scurvy

۴/۱۷	PK <sub>1</sub>
۱۱/۵۷	PK <sub>2</sub>

### ۱-۱-۱- نقش اسید آسکوربیک در بدن

ویتامین ث در واکنش‌های بدن به عنوان یک حمل‌کننده الکترون عمل میکند. این ویتامین مهمترین آنتی‌اکسیدان محلول در آب است. ( آنتی‌اکسیدان به موادی گفته میشود که با حرکت در خون مواد شیمیایی را که به بافتها لطمه می‌رسانند خنثی میکند). ویتامین ث در جلوگیری از بروز یا بهبود بسیاری از بیماریهای مزمن دوران کهنسالی موثر است [۴].

ویتامین ث با تحریک فعالیت گلبول‌های سفید به طور غیرمستقیم با عفونت مقابله میکند. در حضور ویتامین ث جذب آهن از روده باریک به آسانی صورت میگیرد. به این دلیل است که ویتامین ث مانند عامل احیاء کننده اثر کرده، کاهش آهن (III) به آهن (II) را بهبود می‌بخشد که این امر در افزایش جذب آهن و عملکرد آن در واکنش‌های هیدروکسیلاسیون مهم است [۵].

همچنین اسید آسکوربیک از طریق جذب رادیکال‌های آزاد در کاهش عفونت و کنترل بیماریهایی مانند ایدز نقش مهمی را بازی میکند. علاوه بر این به علت واکنش مستقیم با نیتراتها مانع تشکیل نیتروز آمین<sup>۶</sup> شده و خطر سرطان را کاهش میدهد. میزان مصرف ویتامین ث مورد نیاز بدن انسان روزانه ۶۰ میلی‌گرم است [۱]. مهمترین منابع حاوی ویتامین ث بافتهای گیاهی مانند کاهو، کلم، فلفل سبز و میوه‌های تازه مانند، لیمو، انبه، هندوانه و غذاهای حیوانی از قبیل جگر، گوشت، مغز و شیر میباشد.

ویتامین ث نسبت به اکسیداسیون، نگهداری و ذخیره سازی بسیار حساس بوده و زمانی که در معرض نور قرار گیرد به سرعت از بین میرود [۶].

### ۱-۱-۲- مروری بر کارهای انجام شده روی اسید آسکوربیک

روشهای متعددی برای اندازه گیری اسید آسکوربیک وجود دارند که میتوان به روشهای اسپکتروفتومتری [۷-۱۰]، ولتامتری [۱۱-۱۳]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [۱۴ و ۱۵]، روش های تیتراسیون [۱۶] و تزریق در جریان پیوسته [۲۰-۱۷] اشاره کرد.

در سال ۱۹۶۷ کیزر<sup>۲</sup> و وچی<sup>۱</sup> روشی را برای اندازه گیری اسید آسکوربیک پیشنهاد کردند. این روش بر اساس مشتق سیلیل اتر است، که ابتدا یک عامل سیلیل کننده، به نام N-تری متیل سیلیل استامید<sup>۱</sup> با اسید آسکوربیک واکنش کرده و تحت شرایطی تولید تترا (تری متیل سیلیل اتر) آسکوربیک اسید میکند. این محلول سپس توسط کروماتوگرافی گازی تعیین مقدار میشود. مطالعات سینتیکی و آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان میدهد که واکنش کمی است و آنالیز اسپکتروسکوپی جرمی تأیید میکند که محصول تشکیل شده است [۲۱].

در سال ۱۹۷۵ اسید آسکوربیک از طریق واکنش با ۶,۲ دی کلرو فنل ایندوفنل و به وسیله تکنیک جریان متوقف شده اندازه گیری شد. غلظت واکنشگرهای واکنش مرتبه دوم طوری تنظیم شده بود که سیگنال (عبور) در یک محدوده ای از ولتاژ تقریباً بدون هیچ تغییری باقی می ماند. منحنی کالیبراسیون در ناحیه  $10^{-3} \times 10^{-1}$  -<sup>۵</sup> مولار خطی بود. خطای مشاهده شده در این روش ۱٪ و ۲/۲٪ گزارش شد [۲۲]. روشهای دیگری در سالهای ۱۹۷۶ و ۱۹۷۹ از طریق جریان متوقف شده برای اندازه گیری اسید آسکوربیک پیشنهاد شد [۲۴-۲۳].

در سال ۱۹۸۹ یک روش سینتیکی - پتانسیومتری برای اندازه گیری اسید اسکوربیک، بیوتین<sup>۱</sup>، پیریدوکسین هیدروکلرید<sup>۱۱</sup> و تیامین هیدروکلرید<sup>۱۲</sup> پیشنهاد شد. در این روش ابتدا ویتامین مورد نظر با N - برموسوکسین ایمید<sup>۱۳</sup> واکنش می دهد و سرعت تولید برمید از طریق یک الکتروود حساس به برم اندازه گیری میشود. از مزایای این روش می توان به سادگی، راحتی کار و عاری از گونه های مزاحم به خصوص زمانی که

---

2-Kaiser  
3-Vecchi  
1-N-Trimethylsilylacetamide  
2-Biotin  
3-Pyridoxine Hydrochloride  
4-Thiamine Hydrochloride  
5-N-bromosuccinimide

این اندازه گیری‌ها در نمونه های دارویی انجام می‌شود اشاره کرد. همچنین نتایج حاصله از این روش با نتایجی که از سایر روشهای استاندارد به دست آمده بودند قابل مقایسه است [۲۵].

در سال ۱۹۹۱ یک روش فلوریمتری برای تعیین اسیدآسکوربیک در محلولها پیشنهاد شد. این تکنیک بر اساس اکسیداسیون سریع اسید آسکوربیک به وسیله کلرید جیوه (II) است، که در نهایت اسید آسکوربیک به دی هیدروآسکوربیک اسید تبدیل می‌شود. سپس دی هیدروآسکوربیک اسید با اورتوفنیلین دی آمین<sup>۱۴</sup> واکنش می‌دهد و محلول فلورسنت کوئین اگزالین<sup>۱۵</sup> را ایجاد می‌کند. حد تشخیص روش ۰/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر، انحراف استاندارد نسبی روش ۱/۹٪ و دامنه خطی تا حدود ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است [۲۶].

در سال ۱۹۹۱ نیز مقادیر نهایی اسید آسکوربیک از طریق سیستم تزریق در جریان پیوسته و فلورومتری اندازه گیری شد. در این روش ابتدا نمونه وارد دو شیر تزریق شده و پس از آن به یک سیستم حامل که شامل، کلرید جیوه و اورتوفنیلین دی آمین تزریق می‌شود. روش سینتیک تک نقطه‌ای و دو نقطه‌ای<sup>۱۶</sup> از طریق بکارگیری ارتفاع و مساحت پیک به عنوان سیگنال تجزیه‌ای مقایسه شدند. حد تشخیص گزارش شده در این روش ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر است [۲۷].

در سال ۱۹۹۴ روش سینتیکی ساده‌ای از طریق کاهش تولوئیدین آبی توسط اسید آسکوربیک به منظور تعیین مقادیر اسید اسکوربیک توسط صفوی و فتوحی ارائه شد. اندازه گیری سرعت از طریق کاهش جذب تولوئیدین آبی بر اثر از بین رفتن رنگ آن توسط اسید آسکوربیک انجام می‌شود. در این مقاله از دو روش زمان ثابت و زمان متغیر استفاده شده بود، که در روش زمان ثابت محدوده غلظتی ۳/۰-۳۵/۰ میکروگرم بر میلی لیتر از اسید آسکوربیک و در روش زمان متغیر محدوده غلظتی ۵/۰-۵۰/۰ میکروگرم بر میلی از اسید آسکوربیک گزارش شد. درصد انحراف استاندارد نسبی روش بسته به روش سینتیکی بکار رفته از ۱/۳۲٪ - ۰/۷۸ گزارش شده است [۲۸].

در سال ۱۹۹۴ از طریق جداسازی به روش کروماتوگرافی زوج یون بر روی ستون حاوی اکتا دسیل سیلان<sup>۱۷</sup> و با استفاده از شوینده حاوی پتاسیم دی هیدروژن فسفات، تترابوتیل آمونیوم هیدروکسید و متانول، آشکار

---

6-O-Phenylenediamine  
1-Quinoxaline  
2-Single and double-point  
3-Octadesylsilan

سازی و تعیین تعداد گسترده‌ای از اسیدهای آلی از جمله اسید آسکوربیک، اسید سیتریک و فنول کربنیک انجام شد [۲۹].

در سال ۱۹۹۴ از طریق کروماتوگرافی مایع و با استفاده از دکتور دوپرتویی UV-Vis اسیدهای آلی نظیر اگزلیک، مالئیک، سیتریک، فوماریک و آسکوربیک اندازه گیری شد. درصد بازیابی برای اسید آسکوربیک ۹۸/۵٪ و دقت روش ۱/۲٪ گزارش شده است [۳۰].

در سال ۱۹۹۵ یک روش اسپکتروفتومتری ساده و حساس برای تعیین اسید آسکوربیک با استفاده از کمپلکس آهن (III) فرونات پیشنهاد شد. روش به این طریق بود که ابتدا مقداری آهن وارد یک قیف جداکننده شده و سپس مقدار معینی اسید آسکوربیک به آن افزوده می‌شد. پس از آن ۶ میلی لیتر محلول فرون و ۰/۱ میلی لیتر محلول اسید هیدرو کلریک و آب به آن افزوده گردید. در مدت ۱۰ دقیقه یک کمپلکس سبز رنگ ایجاد شد که این کمپلکس استخراج شده و وارد قیف جداکننده دیگری شد. پس از آن ۰/۴-۰/۲ گرم از سدیم سولفات بدون آب به آن افزوده شده و در نهایت جذب محلول در طول موج ۴۶۵ نانومتر اندازه گیری شد. انحراف استاندارد روش برای ۸ اندازه گیری تکراری ۲/۹٪ گزارش شد [۳۱].

در سال ۱۹۹۸ یک روش ساده و حساس برای تعیین اسید آسکوربیک در انواع نوشیدنی ها گزارش شد. در این روش از آنالیز تزریق جریان همراه با آشکار سازی آمپرومتری استفاده شد. یک آرایه ای از میکرو الکتروود طلا که از لحاظ شیمیایی توسط پالادیم اصلاح شده بود، به عنوان الکتروود کارگر مورد استفاده قرار گرفت. روش بر اساس سه مرحله (a) نمونه همراه با افزایش استاندارد اسید آسکوربیک (b) نمونه خالص و (c) نمونه همراه آنزیم استوار بود. منحنی کالیبراسیون در ناحیه ۱/۸-۰/۱۸ میلی گرم بر لیتر کاملاً رفتار خطی داشت. انحراف استاندارد روش کمتر از ۱٪ برای نمونه های سنتزی و برای نمونه های حقیقی ۲/۷-۸/۹٪ گزارش شد [۳۲].

در سال ۱۹۹۹ یک روش اسپکتروفتومتری- سینتیکی تزریق در جریان ساده و حساس ارائه شد، که این روش بر اساس اثر بازدارنگی اسید آسکوربیک روی اثر بهبود دهندگی اگزالات در سیستم پتاسیم دی کرومات، پتاسیم یدید، رودآمین <sup>۱۸۶</sup>G است. حد تشخیص و دامنه خطی به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۱-۴/۰ میکروگرم بر میلی لیتر است. همچنین انحراف استاندارد ۱۱ اندازه گیری تکراری کمتر از ۲٪ است [۳۳].



در سال ۲۰۰۱ تعداد ۱۱ اسید آلی (اگزالیک، آسکوربیک، تارتاریک، مالئیک، لاکتیک، سوکسینیک، فرمیک، استیک، گلوتامیک، فوماریک) از طریق کروماتوگرافی طرد یون<sup>۱۹</sup> تحت شرایط شویش ایزوکراتیک<sup>۲۰</sup> با محلول اسید سولفوریک ۱۷/۰ میلی مول بر لیتر در ستون طرد یون و آشکار سازی UV در ۲۱۰ نانومتر اندازه گیری گردید. انحراف استاندارد در ۱۰ نمونه تکراری بین ۹/۸-۱/۵٪ بود [۳۴].

در سال ۲۰۰۲ انصافی و همکارانش یک روش تجزیه ای حساس برای اندازه گیری اسید آسکوربیک در آب میوه ها و نمونه های دارویی ارائه دادند. روش بر اساس اثر بازداری واکنش بین هیدروکلریک اسید و برومات بود. از بین رفتن رنگ متیل اورانژ بر اثر ایجاد محصولات واکنش به عنوان یک روش اندازه گیری اسپکتروفتومتری بکار گرفته شد. دامنه خطی  $10^{-3} \times 1/2 - 10^{-6} \times 8/0$  مولار اسید آسکوربیک و حد تشخیص روش  $M \times 10^{-6} \times 7/6$  گزارش شده است. انحراف استاندارد ۷ اندازه گیری تکراری در غلظت  $8/0 \times 10^{-6}$  و  $2/0 \times 10^{-5}$  مولار به ترتیب برابر ۲/۸ و ۱/۷٪ بود [۳۵].

در سال ۲۰۰۲ اندازه گیری اسید آسکوربیک توسط اسپکتروسکوپی مشتقی گزارش شد. روش بر اساس اندازه گیری بین دو پیک در طیف های مرتبه دوم و سوم استوار بود. نمونه های مورد استفاده شامل سیر و فلفل سبز بودند اندازه گیری اسید آسکوربیک برای سیر در طیف مشتقی مرتبه دوم در طول موج های ۲۵۳/۲ و ۲۵۹ و برای فلفل سبز در طیف مشتقی مرتبه سوم و در طول موج های ۲۵۶/۴ و ۲۶۱/۶ انجام شد. ناحیه خطی ۱۰-۲ میکروگرم بر میلی لیتر و انحراف استاندارد نسبی روش بین ۰/۸۹-۲/۹۹٪ و برای ۵ اندازه گیری تکراری گزارش شد. درصد بازبایی در حدود ۹۷/۸۹-۹۱/۶۶٪ از طریق یک روش استاندارد به دست آمد [۳۶].

در سال ۲۰۰۴ مقادیر اسید آسکوربیک و اسید سیتریک در نمونه های خوراکی اندازه گیری شد. در این روش ابتدا به وسیله سدیم هیدروکسید مقدار کل مولهای اسید تعیین می شد، سپس تعداد مولهای اسید آسکوربیک به وسیله تیتراسیون با پتاسیم یدات مشخص شده و در نهایت مولهای اسید سیتریک محاسبه می شدند. زمان هر اندازه گیری ۲ تا ۳ ساعت به طول می انجامید [۱۶].

در سال ۲۰۰۵ یک روش اسپکتروفتومتری حساس برای تعیین مقادیر کم اسید آسکوربیک به وسیله یک شناساگر جدید گزارش شد. روش بر اساس اثر بازداری اسید آسکوربیک در اکسیداسیون پیرونین Y (PRY)<sup>۲۱</sup> با

---

2-Size Exclusion  
3-Isocratic  
1-Pyronine Y (PRY)

استفاده از نیتريت بود. حد تشخيص روش ۰/۰۱۲ میکروگرم بر ميلي ليتر و دامنه خطي اسيد آسکوربيک ۰/۰۲-۰/۳۶ میکروگرم بر ميلي ليتر به دست آمد. انحراف استاندارد ۱۱ اندازه گيري تکراري از اسيد آسکوربيک با غلظت‌های ۰/۱۲ و ۰/۲۴ میکروگرم بر ميلي ليتر به ترتيب ۱/۴ و ۰/۷۲٪ گزارش شده است [۳۷].

در سال ۲۰۰۵ تعيين فلوريمتری آسکوربيک اسيد در قرص های ويتامين ث با استفاده از متيلن بلو گزارش شده است. روش بر اساس واکنش بين اسيد آسکوربيک و متيلن بلو می باشد. شدت فلورسانس متيلن بلو در خطوط تحريك و نشر ۶۴۴ و ۶۸۲ نانومتر اندازه گيري شد. يک رابطه خطي بين شدت فلورسانس و غلظت اسيد آسکوربيک وجود داشت. دامنه خطي  $6/0 \times 10^{-6}$  -  $3/0 \times 10^{-7}$  مولار و حد تشخيص روش  $2/5 \times 10^{-7}$  مولار گزارش شد [۳۸].

در سال ۲۰۰۷ يک روش سينتيکی با يک سيستم تزريق در جريان پيوسته برای تعيين اسيد آسکوربيک با استفاده از اثر کاتاليزوری آن در واکنش کمپلکسومتری مس (II) با ۵ و ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ تتراکيس (۴-N تری متيل آمینوفنيل) پرفيرين<sup>۲۲</sup> ارائه شد. نتايج اوليه نشان داد که طيف جذبی پرفيرين در ۴۰۰nm جذب شدیدی ايجاد می کند. دامنه خطي گزارش شده برای اين روش ۱۰۰۰-۰/۱ میکروگرم بر ميلي ليتر و انحراف استاندارد روش ۰/۱۱٪ بود [۳۹].

در سال ۲۰۰۷ دو روش برای اندازه گيري اسيد آسکوربيک پيشنهاده شد. در روش اول اکسیداسيون اسيد آسکوربيک به وسيله سريم (IV) در محيط هيدروکلريك اسيد انجام شد. سپس سريم (IV) واکنش نکرده با يديد واکنش داده و توليد کمپلکس آبی رنگ می کند که در ۵۹۰ نانومتر جذب شدیدی دارد در روش دوم ابتدا اکسیداسيون اسيد آسکوربيک توسط کروم (VI) انجام شده و سپس کروم (VI) واکنش نکرده با دی فنيل کاربازيد تشکيل گونه رنگی داده که در طول موج ۵۵۰ نانومتر بيشترين جذب را داراست. ماده اکسيد کننده واکنش داده، در هر دو روش متناسب با مقادير اسيد آسکوربيک است [۴۰].

## ۱-۲-کبالت

کبالت یکی از عناصر واسطه سری اول جدول تناوبی می باشد که بین سالهای ۱۷۳۰-۱۷۳۷ توسط جورج براند<sup>۲۳</sup> کشف شد [۴۱]. سایر ویژگیهای کبالت در جدول (۱-۲) آورده شده است. مقدار این فلز در طبیعت کم است (۰/۰۰۲۹٪ قشر زمین) و بیشتر همراه با نیکل و آرسنیک یافت می شود [۴۲]. کبالت به صورت فلز آزاد وجود ندارد و عموماً به صورت سنگ معدن یافت می شود. مهمترین کانه های آن سماتیت<sup>۲۴</sup>  $CoAs_2$  و کبالتیت<sup>۲۵</sup>  $CoAsS$  است.

- 
- 1-George Brand
  - 2-Smaltite
  - 3-Cobaltite (Cobalt glance)

این فلز به عنوان محصول جانبی فعالیت های استخراج مس و نیکل است. برای استخراج این فلز پس از برشته کردن کانه ها در طی چندین مرحله به  $Co_2O_3$  تبدیل می شوند که با کمک هیدروژن به فلز احیاء می شود. کبالت از جمله عناصری است که خاصیت فرو مغناطیسی دارد [۴۳-۴۴].

روند ناپایدار شدن حالت های اکسایش بالاتر و پایدارتر شدن حالت اکسایش (II) نسبت به (III) در کبالت به خوبی منعکس است. به این معنی که حالت های اکسایش بالاتر از (IV) برای کبالت تقریباً وجود ندارد. حالت اکسایش (IV) فقط در معدودی از ترکیبات است و حالت اکسایش (III) در نمک های ساده پایدار نیست، مگر در کمپکس ها مخصوصاً آنهایی که اتم دهنده شان ازت باشند. برای این فلز حالت اکسایش I بعد از مس بیشتر متداول است و حالت اکسایش (II) در انواع مختلف ترکیبات یافت می شود.

اکسیدهای کبالت شامل  $CoO$  که مقداری اکسیژن اضافی دارد،  $Co_3O_4$ ،  $Co_2O_3$  به اضافه  $CoO_2$  و اکسید هیدرات  $CoO(OH)$  است. اما برای کبالت III فقط فلئورید  $CoF_3 \cdot 3H_2O$ ، سولفات  $Co_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$  و نیز زاجهای  $MCo(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$  وجود دارد [۴۳].

کمپکسهای کبالت II به صورت هشت وجهی، چهار وجهی، مربعی و پنج کوئوردینه هستند. کمپکسهای هشت وجهی صورتی یا قرمز رنگ می باشد. و کمپکسهای چهار وجهی آبی تیره هستند. کمپکسهای کبالت III از جمله پایدارترین کمپکسها به شمار می آیند و تمایل زیادی برای تشکیل کمپکس با لیگاندهایی همانند  $SCN^-$ ،  $No_2^-$ ،  $en$ ،  $NH_3$  دارند. کمپکسهای چند هسته ای کبالت III نیز وجود دارند. غیر از  $[CoF_6]^{3-}$  و  $[Co(H_2O)_3F_3]$ ، همه کمپکسهای هشت وجهی کبالت III کم اسپین هستند و بنابراین دیامغناطیس می باشند.

کبالت به صورت طبیعی دارای یک ایزوتوپ پایدار  $^{59}Co$  است. ۲۲ رادیو ایزوتوپ نیز شناخته شده که پایدارترین آنها  $^{60}Co$  (رادیو ایزوتوپ مصنوعی) با نیمه عمر ۵/۲۷۱۴ سال و  $^{57}Co$  با نیمه عمر ۲۷۱/۷۹ روز و  $^{56}Co$  با نیمه عمر ۷۷/۲۷ روز و  $^{58}Co$  با نیمه عمر ۷۰/۸۶ روز هستند. سایر ایزوتوپهای رادیواکتیو دارای نیمه عمری کمتر از ۱۸ ساعت می باشند [۴۱].

## ۱-۲-۱- کاربردهای کبالت:

موارد کاربرد کبالت را می توان تحت عناوین زیر برشمرد [۴۱]:

۱- تهیه آلیاژهای دیرگداز برای قطعات توربین.

۲- آلیاژهای مقاوم در مقابل فرسایش و آسیب بر اثر کارکرد بالا.

۳- آهنربا و واسطه ضبط مغناطیسی.

۴- عامل خشک کننده در رنگها و براق کننده ها.

۵- کاتالیزور برای مصرف در صنایع شیمیایی و نفتی.

از کبالت ۶۰ به عنوان منبع اشعه گاما در پرتودرمانی و رادیوگرافی صنعتی به منظور تشخیص عیوب ساختاری قطعات فلز استفاده می شود.

### ۱-۲-۲- نقش بیولوژیکی

مقادیر کم کبالت برای بسیاری از موجودات زنده از جمله انسان حیاتی است وجود ۰/۳ تا ۰/۱۳ قسمت در میلیون کبالت در خاک برای سلامتی حیوانات علف خوار مفید است. این عنصر جزء اصلی ویتامین کبالامین یا B-۱۲ است [۴۱].

جدول (۲-۱) خواص فیزیکی و شیمیایی کبالت و مس [۴۲]:

عنصر		خواص
مس	کبالت	
۲۹	۲۷	عدد اتمی
۶۳/۵۴۶	۵۸/۹۳۳	وزن اتمی $gr/mol$
۱/۹	۱/۸	الکترون گاتیویته
۱۰۸۳	۱۴۹۵	نقطه ذوب $^{\circ}C$
۲۵۷۰	۲۱۰۰	نقطه جوش $^{\circ}C$
۸/۹۵	۸/۹۰۰	دانسیته $gr/m^3$

۱/۶۷۳	۶/۲۴	مقاومت الکتریکی $\Omega cm$
-------	------	-----------------------------

### ۱-۳- مس

مس فلز نسبتاً قرمز رنگی است که از خاصیت هدایت الکتریکی و حرارتی بسیار بالایی برخوردار است. این فلز جزء سه عنصر اولی بود که بشر آن را شناخت. قدمت مصنوعات مسی کشف شده به ۸۷۰۰ سال قبل از میلاد برمی گردد. ریشه لغوی این فلز از کالکس<sup>۲۶</sup> گرفته شده است که یونانیان از آن استفاده می کردند [۴۱]. خواص فیزیکی و شیمیایی مس در جدول (۱-۲) آورده شده است [۴۲].

مقدار مس در حدود ۰/۰۰۶۸٪ قشر زمین است. بجز مقدار کمی که در اثر کاهش اکسید آن با کک تهیه می شود استخراج مس تا حدی پیچیده است. برای تهیه مس خالص می توان مس ناخالص را با روش الکترولیز خالص کرد که طی آن مس روی کاتد ته نشین می گردد [۴۲].

چون لایه  $3d^{10}$  مانند یک لایه گاز نادر هسته را نمی پوشاند، برداشتن الکترون  $4s^1$  اتم مس به انرژی بیشتر از برداشتن الکترون یک فلز قلیایی نیاز دارد. همچنین برعکس فلزات قلیایی یونیزاسیون دومین و سومین الکترون برای مس خیلی کمتر است و به همین دلیل مس می تواند حالت‌های اکسایش II و III و به ندرت IV علاوه بر I داشته باشد و جزء فلزات واسطه به حساب می آید. به علت شرکت داشتن الکترون‌های d در پیوند فلزی، گرمای تصعید و نقطه ذوب مس از فلزات قلیایی خیلی بالاتر است. این عامل سبب شده که مس تا حدی بی اثر باشد و نمک‌های آن خاصیت کووالانسی پیدا کند [۴۳].

مس در حالت اکسایش I ترکیبات دیامغناطیس تشکیل می دهد که در صورت نبودن انتقال بار بی رنگ می باشند. یکی از ترکیبات مهم مس نیترات مس (II) است، این ترکیب بدون اینکه تجزیه شود قابل خشک کردن نیست و برای تهیه نیترات خشک آن می توان فلز را در محلولی از  $N_2O_4$  و اتیل استات حل کرد که در طی آن نمک بلوری  $Cu(NO_3)_2 - N_2O_4$  به دست می آید و بر اثر حرارت دادن در ۹۰ درجه سانتی گراد به  $Cu(NO_3)_2$  تبدیل می گردد. نیترات مس I در حالت گازی، مسطح است و گروه‌های نیترات دو دندان‌ای

هستند. اما در حالت جامد ساختمان پیچیده و طولانی دارد. بطور کلی کمپکسهای هشت وجهی مس سبز یا آبی رنگ هستند، مگر اینکه انتقال بار دخالت کند و رنگ را تغییر دهد [۴۴].

علاوه بر تعداد زیادی از رادیوایزوتوپ - دو ایزوتوپ پایدار  $^{63}\text{Cu}$  و  $^{65}\text{Cu}$  موجود است. تعداد بسیار زیادی از این رادیوایزوتوپ ها دارای نیمه عمر هایی به مقیاس دقیقه یا کمتر هستند. طولانی ترین نیمه عمر متعلق به  $^{64}\text{Cu}$  است که مدت آن ۱۲/۷ ساعت با دو حالت فرسایشی که منجر به محصولات جداگانه می شود [۴۱].

### ۱-۳-۱- کاربردهای مس

مس فلزی قابل انعطاف و چکش خوار است که کاربرد های زیادی دارد از جمله می توان به موارد زیر اشاره کرد [۴۱].

- ۱- سیم های مسی - لوله های مسی.
- ۲- رباطهای الکتریکی.
- ۳- موتورهای الکترومغناطیسی - کلیدها و تقویت کننده های الکتریکی.
- ۴- لامپهای خلاء و لامپهای پرتو کاتدی.
- ۵- هدایت کننده موج برای تشعشع مایکروویو.
- ۶- در تهیه IC بجای آلومینیوم مورد استفاده است.
- ۷- به عنوان یک بیواستاتیک در بیمارستانها.
- ۸- برای پوشاندن قسمتهای مختلف کشتی.

### ۱-۳-۲- نقش بیولوژیکی مس

وجود مس برای کلیه گیاهان و حیوانات ضروری است در آنزیم های حاوی به Cu-Zn به نام سوپر اکسید دیسموتاس<sup>۳۷</sup> وجود دارد. مقدار مصرف روزانه مس در بزرگسالان ۰/۹ میلی گرم است. مس در جریان

خون عمدتاً روی پروتئین پلاسمایی به نام سرولوپلاسمین<sup>۲۸</sup> حرکت می کند. اگرچه مس اول در روده جذب می شود این عنصر همیشه با آلومین به سوی کبد منتقل می شود. چنانچه مس در صفرا باقی بماند، موجب بیماری می گردد که در صورت عدم درمان منجر به آسیب های کبدی و مغزی می شود [۴۱].

مس به مقدار کم در تولید کلروفیل، پروتئین، کربوهیدرات ها و همچنین در فعال ساختن برخی از آنزیم ها دخالت می کند و در صورت کمبود مس برگهای درختان کوچک مانده و سرشاخه های جوان دچار برگ سوختگی می شود [۴۱].

### ۱-۲-۳ مروری بر کارهای انجام شده روی اندازه گیری همزمان مس و کبالت

اندازه گیری مس و کبالت به روشهای مختلفی همانند کروماتوگرافی [۴۸-۴۵]، اسپکتروسکوپی [۵۳-۴۹]، فلورسانس [۵۵-۵۴] و تزریق در جریان پیوسته [۵۸-۵۶] انجام شده است.

در سال ۱۹۹۵ مقاله ای راجع به استفاده از آنالیز تزریق جریان برای تعیین همزمان اسپکتروفوتومتری مخلوطهای دوتایی و سه تایی شامل Cu, Co, Zn منتشر شد. در این روش از کالیبراسیون چند متغیره استفاده شده بود. دامنه خطی کبالت، مس با ترکیب ۲ کربوکسیل - ۲ هیدروکسی ۵ سولفوفورمازیل بنزن به ترتیب ۰/۳۹۷-۱/۵۹۰ و ۰/۲۶۸-۱/۸۷۹ میکروگرم بر میلی لیتر بود. روش کالیبراسیون چند متغیره از یک تکنیک اصلاح شده حداقل مربعات جزئی به وجود آمده بود. متغیرهای موثر بر FIA و واکنش مورد مطالعه قرار گرفتند [۵۹].

در سال ۱۹۹۹ تعیین همزمان یونهای فلزی با PAR<sup>۲۹</sup> انجام گرفت. یونهای فلزی شامل کادمیم، کبالت، مس، سرب، منگنز، نیکل و روی در مخلوطهای چهارتایی بودند. روش بر اساس کاربرد رگرسیون خطی چندتایی<sup>۳۰</sup> طیف های کمپکسها استوار بود. حد تشخیص گزارش شده برای عناصر مذکور در محدوده ۰/۱-۰/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر بودند [۶۰].

در سال ۱۹۹۹ خیامیان و همکارانش از یک روش اسپکتروفوتومتری با استفاده از حداقل مربعات جزئی بر پایه تجزیه مقدار مجرد کبالت، نیکل و مس را اندازه گرفتند. در این روش عناصر مزبور با آمونیوم ۲ آمینو-اکسید هگزان- ۱- دی تیو کربومات کمپلکس تشکیل داده و بررسی شده اند. در این روش محاسبه متغیر

---

2-Ceruloplasmin  
3-4-(2-Pyridylazo) resorcinol  
4-Multiple Liner regression



های پنهان از طریق تکنیک تکراری<sup>۳۱</sup> صورت نمی گرفت. حد تشخیص های به دست آمده برای کبالت و مس به ترتیب ۰/۰۷۲ و ۰/۰۶۳ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد [۶۱].

در سال ۲۰۰۰ روشی برای تعیین یون های فلزی در آبهای طبیعی توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی پس از پیش تغلیظ کمپکسهای پیروکاتکول ویولت<sup>۳۲</sup> روی یک ستون کربن فعال پیشنهاد شد. این روش برای تعیین عناصر مس، منگنز، کبالت، کادمیم، سرب، نیکل و کروم در نمونه های آب معرفی گردید. نمونه ها ابتدا روی کربن فعالی قرار گرفتند که pH آن ۴-۸ بود و سپس توسط اسید نیتریک ۱/۰ مولار در استون شسته میشدند. غلظت یونهای فلزی آشکار شده پس از پیش تغلیظ با مقادیر افزوده شده به آنها مطابقت خوبی داشت. مقدار انحراف استاندارد نسبی برای ۱۰ اندازه گیری تکراری بین ۳-۸٪ و حد تشخیص روش زیر ۷۰ نانوگرم بر لیتر گزارش شده است [۶۲].

در سال ۲۰۰۱ تعیین سینتیکی چند جزئی مس، روی، کبالت، نیکل و آهن توسط کالیبراسیون چند متغیره مرتبه اول و دوم پیشنهاد شد. در این روش سیستم تزریق در جریان پیوسته به یک اسپکتروفتومتر فتودیود آرایه کوپل میشد. روش به این ترتیب بود که بجای اینکه فلزات به صورت مستقیم با PAR وارد واکنش شوند از طریق جایگزینی کمپکس های فلز- نیترویلو تری استیک<sup>۳۳</sup> با PAR بررسی میشدند [۶۳].

در سال ۲۰۰۲ نیز روشی با استفاده از همرسوبی فلزات روی دی اکسید منگنز با استفاده از D-گلوکز به عنوان عامل احیاء کننده برای پرمنگنات پتاسیم گزارش شد. در این روش ابتدا ۲ لیتر از آب طبیعی در ۱۱- pH=۳/۵ تنظیم شده و سپس با ۱۰ میلی لیتر پرمنگنات پتاسیم ۱٪ و ۲۰ میلی لیتر D-گلوکز ۱/۰٪ مخلوط می شد. سپس نمونه در دمای ۷۵-۸۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شده که بلافاصله  $MnO_2$  تشکیل شده با عناصر آلومینیم، طلا، بیسموت کادمیم، کبالت، مس، آهن مولیبدن، نیکل، سرب، پالادیم، ویتانیم، و انادیم، تنگستن و روی همرسوب می گردید. رسوب حاصله سپس توسط فیلتراسیون جدا شده و در ۲/۰ میلی لیتر هیدرو کلریدریک اسید ۵٪ و ۲/۰ میلی لیتر پروکسید هیدروژن ۳۰٪ حل و تا حجم ۲۵ میلی لیتر رقیق می شد. سپس این محلول برای آنالیز AAS, ICP-AES استفاده می شد. درصد بازیابی ها بین ۹۶-۱۰۵٪ گزارش شده است. فاکتور پیش تغلیظ در حدود ۸۰ و حد تشخیص های به دست آمده برای عناصر کبالت و

---

1-Iterative Technique  
2-Pyrocatechol Violet  
3-Nitrilotriactic (NTA)

مس ۵/۰ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است. انحراف استاندارد نسبی روش پیشنهاد شده برای ۵ اندازه گیری تکراری ۸٪ گزارش شد [۶۴].

در سال ۲۰۰۲ طراحی جدیدی از یک سیستم جریان مستقیم برای اندازه گیری همزمان غلظت عناصر روی، کادمیم، سرب، مس، نیکل، کبالت و کروم در آب رودخانه معرفی گردید. این فلوسل در آزمایشگاه طراحی شده و شامل سه الکتروود بود. در شرایط بهینه حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی روش برای مس  $10^{-10} \times 2/29$  مولار و  $0/138$  و برای کبالت  $10^{-9} \times 1/01$  مولار و  $0/113$  گزارش شد. نتایج حاصله از این روش با اندازه گیریهای به دست آمده از روش ICP-MS به عنوان روش مرجع مقایسه شدند [۶۵].

در سال ۲۰۰۴ مطالعاتی روی پیش تغلیظ جذبی تزریق جریان که با اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله ای کوپل شده بود برای اندازه گیری کروم (VI)، مس، نیکل و کبالت انجام گرفت. حد تشخیص به دست آمده برای مس و کبالت به ترتیب  $0/26$  و  $0/33$  میکروگرم بر لیتر و دقت روش برای ۷ اندازه گیری تکراری برای  $2/0$  میکروگرم بر لیتر نمونه کبالت  $4/1\%$  و برای  $1/0$  میکروگرم بر لیتر نمونه مس  $1/7\%$  گزارش شد [۶۶].

در سال ۲۰۰۴ حجازی و همکارانش یک روش حساس برای استخراج و پیش تغلیظ و تعیین کبالت، نیکل و مس با لیگاند ۴- (۲- پیریدیل آزو) رزورسینول گزارش کردند. در این روش فاز ثابت پلی تترافلورواتیلن بود و کالیبراسیون چند متغیره برای داده ها مورد استفاده قرار گرفت. محدوده طول موج بکار رفته 400-700 نانومتر گزارش شد. کالیبراسیون تجربی برای روش حداقل مربعات جزئی با ۲۱ نمونه از کبالت، نیکل و مس در محدوده  $41/25-5/90$ ،  $29/35-5/30$  و  $41/30-0/64$  نانوگرم بر میلی لیتر به دست آمد. با استفاده از روش تقاطعی تعداد اجزا محاسبه گردید. میانگین خطاهای ریشه مجموع مربعات<sup>۳۴</sup> بین  $0/48$  تا  $1/37$  نانوگرم بر میلی لیتر بود [۶۷].

در سال ۲۰۰۵ روشی برای تعیین عناصر در الکل سوختی به وسیله تبخیر الکتروترمال با آشکارسازی-ICP MS پیشنهاد شد. روش بر اساس کالیبراسیون خارجی در برابر محلولهای اتانل استوار بود. در این روش از پیرولیز و تبخیر در دمای  $400$  و  $2300$  درجه سانتی گراد برای آنالیت هایی که فرارند، و برای آنالیت های غیرفعال دمای به ترتیب  $1000$  و  $2500$  درجه سانتی گراد استفاده شد. برای تعیین عناصر آرسنیک، کادمیم، سرب، قلع و تالیوم، عنصر پالادیم به عنوان اصلاحگر در دمای  $800$  برای پیرولیز و  $2400$  برای تبخیر اضافه

شد. غلظت هایی که توسط روش به دست آمدند در حدود میکروگرم بر لیتر بودند. درصد های بازیابی بین ۱۲۴-۷۵٪ قرار داشتند. حد تشخیص بر حسب میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه گیری تکراری برای کبالت و مس به ترتیب ۰/۰۰۲، ۱۰٪ و ۰/۲۲، ۶/۶٪ به دست آمدند. سایر عناصر مورد اندازه گیری شامل نیکل، منگنز، آهن، آرسنیک، نقره، سرب، قلع، کادمیم و تالیم بودند [۶۸].

در سال ۲۰۰۶ نیز با استفاده از روش <sup>۲۵</sup>HPSAM عناصر آهن، کبالت و مس در یک محیط مایسلی اندازه گیری شدند. این کار از طریق افزایش همزمان سه آنالیت به یک مخلوط انجام می شد. در این روش غلظت آنالیت از داده های جذبی در دو طول موج انتخابی که دو گونه دیگر به عنوان مزاحم وجود داشتند اندازه گیری شد. دی اتیل دی تیو کربومات <sup>۳۶</sup>DDC در یک محلول مایعی از ستیل تری متیل آمونیوم بروماید <sup>۳۷</sup>(CTAB) برای اندازه گیری در pH=5/5 استفاده شد. دامنه خطی برای کبالت و مس در حضور عناصر دیگر به ترتیب 0/0-8/0 و ۰/۰-۱۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد [۶۹].

در سال ۲۰۰۷ روش پیش تغلیظ و اندازه گیری همزمان مس، نیکل، کبالت و سرب توسط جذب اتمی شعله ای گزارش شد. این روش بر اساس تشکیل -کمپکسهای از فلزات با ۴ و ۶ دی هیدروکسی ۲مرکاپتو پیریمیدین <sup>۳۸</sup> که روی کربن فعال شده قرار داشت انجام می گرفت. محتویات فلزات با استفاده از ۵/۰ میلی لیتر اسید نیتریک ۲/۰ مولار شسته شدند و سپس در خط رزونانسی جذب اتمی آشکارسازی صورت گرفت. در شرایط بهینه دامنه خطی برای مس و کبالت ۱/۰-۰/۰۴ میکرو گرم بر میلی لیتر به دست آمد. حد تشخیص های گزارش شده برای هر عنصر به عنوان مقداری از آنالیت در ۱ نانوگرم بر میلی لیتر که نسبت سیگنال به نویز برابر ۳ ایجاد کند مشخص شد. حد تشخیص برای مس و کبالت ۲/۹ و ۳/۴ به دست آمد. درصد بازیابی این روش برای کبالت و مس به ترتیب ۹۸/۹ و ۹۹/۲ و انحراف استاندارد نسبی به ترتیب ۱/۳ و ۱/۲ حاصل شد [۷۰].

در سال ۲۰۰۸ یک سیستم پیش تغلیظ بر خط <sup>۳۹</sup> برای تعیین همزمان عناصر کادمیم، مس، نیکل، وانادیم، روی، کبالت و سرب در نمونه های حقیقی و آشکارسازی آنها به وسیله اسپکتروسکوپی ICP-MS ارائه شد. سیستم بر اساس بازداری کاتیونی آنالیت ها روی یک ستون کوچک که با ژل اصلاح شده سیلیکا پر شده بود و حاوی

---

1-H-Point Standard Addition Method  
2-Di-ethyl Di-thio Carbamate(DDC)  
3-Cethyl Tri Amonium Bromaid  
4-4,6Di Hydroxi Mercapto Primidin(DHMP)  
5-On-Line

نئوبیم اکسید (V) بود استوار بود. شرایط بهینه pH=7 سرعت جریان نمونه 6ml/min، سرعت جریان شوینده 2ml/min و غلظت شوینده 2/5M گزارش شد. انحراف استاندارد نسبی برای 7 اندازه گیری تکراری بین 4/5- 0/8/فاکتور غنی سازی 23/3-37/2 و محدوده خطی روش 0/05-25/0 mg/L گزارش شد. حد تشخیص روش بین 0/1 تا 0/3 میکروگرم بر میلی لیتر است. درصدهای بازیابی نیز بین 90-110٪ و دقت روش نیز توسط موادی ویژه بررسی شد که نتایج قابل ملاحظه و خوب بود [71].

## فصل دوم

### مقدمه ای بر روشهای تجزیه شیمیایی

#### ۲-۱- مقدمه [72]

یک روش تجزیه شیمیایی برای تعیین نوع مواد شیمیایی در نمونه یا اندازه گیری مقدار هر یک از آنها به کار میرود، که حالت اول تجزیه شیمیایی کیفی<sup>۴۰</sup> و حالت دوم تجزیه شیمیایی کمی<sup>۴۱</sup> نامیده میشود. برخی از متخصصین شیمی تجزیه بین یک تجزیه شیمیایی<sup>۴۲</sup> و یک سنجش شیمیایی<sup>۴۳</sup> معمولی تفاوت قائل میشوند.

- 
- 1-Qualitative Analysis
  - 2-Quantitative Analysis
  - 3-Chemical Analysis
  - 4-Chemical Assay



کمترین غلظت ماده است که وقتی این غلظت به سمت صفر میل میکند علائم قابل قبول تجزیه ای از بین برود. حد تشخیص را با علامت  $LOD$  نشان میدهند و یک رقم شایستگی مفید برای مقایسه دو یا چند روش به منظور اندازه گیری یک گونه یا گونه های مختلف توسط یک روش است و عملاً به عنوان غلظتی از گونه تعریف میشود که یک علامت تجزیه ای مساوی با  $S_D = k \cdot S_{bl}$  تولید کند.  $k$  ضریب اطمینان و  $S_{bl}$  انحراف استاندارد اندازه گیری شده برای شاهد است. اگر فرض شود که نمودار درجه بندی در نزدیکی  $LOD$  خطی و دارای شیب  $m$  است حد تشخیص را میتوان از رابطه  $LOD = \frac{k \cdot S_{bl}}{m}$  به دست آورد که بر طبق تعریف کیزر<sup>۴۶</sup> مقدار منطقی برای  $K$  برابر ۳ است [۷۴].

## ۲-۱-۲- روشهای سینتیکی و کاربرد آنها در شیمی تجزیه

### ۲-۱-۲-۱- سینتیک چیست؟ [۷۵]

واژه سینتیک اندازه گیری سرعت واکنش های شیمیایی را در ذهن تداعی میکند. علم شیمی عمدتاً به بررسی واکنشهای شیمیایی می پردازد. در نتیجه علمی که سرعت واکنش های شیمیایی را بررسی میکند از جایگاه مهمی برخوردار است.

علم سینتیک علاوه بر تعیین سرعت واکنشها، به مکانیزم آنها نیز می پردازد. واضح است که چنین علم فراگیری ارتباط های قوی و مستحکمی با سایر شاخه های علوم مانند دینامیک، مکانیک آماری و اسپکتروسکوپی دارد. علم سینتیک در تعیین مکانیزم واکنش ها نقش کلیدی دارد و در بررسی شیمی اتمسفری نقش اصلی را بازی میکند.

### ۲-۲-۱-۲- تاریخچه روشهای سینتیکی

سال ۱۸۵۰ میلادی را میتوان سال تولد علم سینتیک دانست. در آن سال یک شیمیدان آلمانی به نام ویلهلمی<sup>۴۷</sup> (۱۸۶۴-۱۸۱۲) نشان داد که سرعت هیدرولیز ساکارز و تبدیل آن به گلوکز و فروکتوز با توان اول

غلظت ساکارز متناسب می‌باشد. دهه ۱۹۳۰-۱۹۲۰ سالهای طلایی برای علم سینتیک شیمیایی می‌باشد. در میان روشهای مختلف تجزیه ای، تجزیه کاتالیتیکی که ماهیتی کاملاً سینتیکی دارد از نظر تاریخی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. تجزیه کاتالیتیکی هم برای تجزیه نمونه های میکرو<sup>۴۸</sup> و هم برای تجزیه نمونه های ماکرو<sup>۴۹</sup> به کار می‌رود. ویلهلمی سرعت واکنش را با یک معادله دیفرانسیلی تفسیر نمود و وابستگی دمایی آنرا با یک رابطه تجربی بیان کرد. کارهای ویلهلمی برای ۳۰ سال به فراموشی سپرده شد تا اینکه استوالد<sup>۵۰</sup> (۱۹۳۲-۱۸۵۳) به اهمیت آن پی برد. قبل از بررسی سینتیک واکنشها توسط ویلهلمی (از اوایل قرن ۱۸ میلادی) تحقیقاتی در ارتباط با سرعت واکنش های شیمیایی انجام شده بود. در سال ۱۷۷۳ شخصی به نام ونزل<sup>۵۱</sup> سرعت حل شدن فلزات در اسیدها را اندازه گیری کرد. در سال ۱۸۱۸ شیمیدان فرانسوی به نام تنارد<sup>۵۲</sup> (۱۸۵۷-۱۷۷۷) تجزیه شدن هیدروژن پراکسید را که به تازگی کشف نموده بود بررسی کرد. از آنجایی که در آن زمان به کشف مواد بیشتر از تفسیر رفتار آنها اهمیت میدادند در هیچکدام از این کارها سرعت واکنش به صورت کمی بررسی نگردید.

برتوله<sup>۵۳</sup> (۱۹۰۷-۱۸۲۷) و سنت کیلس (۱۸۶۳-۱۸۳۲) با چاپ مقاله ای در سال ۱۸۶۲ کارهای ویلهلمی را دنبال کردند در این مقاله واکنش بین اتانول و اسیداستیک که منجر به تولید استات اتیل در آب میشود، بررسی گردید. هر چند توجه عمده آنها به برقراری تعادل بین واکنشگرها و محصولات واکنش بود، ولی به نتایجی در مورد سرعت ترکیب شدن اتانول و اسیداستیک نیز رسیدند. بر اساس این نتایج سرعت واکنش با حاصلضرب غلظت واکنشگرها متناسب بود.

بین سالهای ۱۸۶۵ تا ۱۸۶۷ هارکورت<sup>۵۴</sup> اندازه گیریهای تجربی زیادی بر روی واکنش بین هیدروژن پراکسید و هیدروژن یدید و همچنین پتاسیم پرمنگنات و اسید اکسالیک انجام داد و به اثر تغییر غلظت واکنشگرها بر روی سرعت واکنش پی برد. این نتایج را ویلیام اسون<sup>۵۵</sup> (۱۹۱۶-۱۸۳۹) از لحاظ ریاضی مورد بررسی قرار داده و با شکل های انتگرال گیری شده معادلات دیفرانسیلی بیان کرد که شباهت زیادی به روابط سینتیکی امروزی دارد. معادلات به دست آمده ارتباط بین مقدار محصول تولید شده با زمان را نشان میداد.

- 
- 2-Micro Sample
  - 3-Macro Sample
  - 4-Ostwald
  - 5-Wenzel
  - 6-Thenard
  - 1-Berthelot
  - 2-Harcourt
  - 3-William Esson

اسون واکنش های پی در پی را نیز بررسی نمود. مطالعات اسون و هارکورت زمینه ساز علمی به نام سینتیک شیمیایی گردید که از اوایل قرن بیستم یکی از فعالترین زمینه های تحقیقاتی و تکنولوژی را در اختیار بشر قرار داده است [۷۵].

در سال ۱۸۷۶ گویارد<sup>۵۶</sup> اثر کاتالیزوری وانادیوم در اکسایش آنیلین توسط یون کلرات را مورد بررسی قرار داد و از واکنش مذکور برای آشکار سازی حضور وانادیوم استفاده نمود. سپس وتیز<sup>۵۷</sup> و اسموند<sup>۵۸</sup> یک روش نیمه کمی را برای تخمین مقادیر وانادیوم ارائه کردند [۷۶]. سپس در سال ۱۸۸۵ شخصی به نام کولتف و ساندل<sup>۵۹</sup> اثر کاتالیزوری یدید در واکنش اکسایش آرسنیک (III) توسط سریم (IV) را گزارش نموده و از آن برای تعیین مقدار یدید استفاده کردند [۷۷].

## ۲-۱-۲-۳- واکنش های شیمیایی در شیمی تجزیه

امروزه مطالعه و کاربرد واکنش های شیمیایی در فاز محلول قسمت اعظمی از شیمی تجزیه را تشکیل میدهد. در واقع برخی از روشها و تکنیک های تجزیه ای بر اساس اندازه گیری یک خاصیت فیزیکی یا شیمیایی سیستم یا اجزای شیمیایی مورد نظر می باشد در این راستا اندازه گیری های تجزیه ای به دو روش صورت میگیرند [۷۸].

### ۱- روش های سینتیکی

### ۲- روش های ترمودینامیکی یا تعادلی

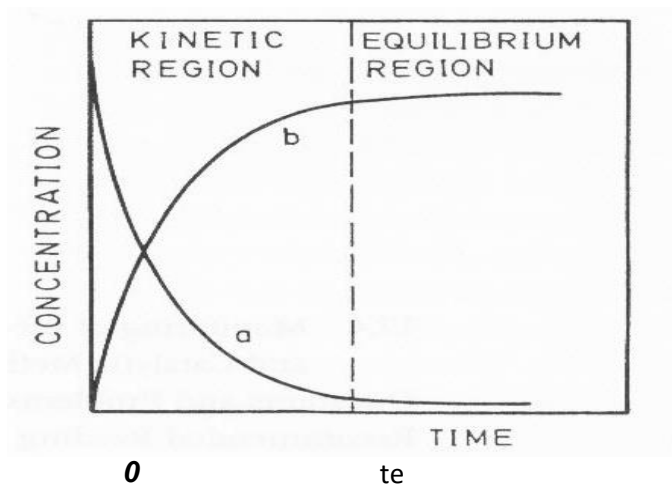
روش های تجزیه ای سینتیکی و ترمودینامیکی با هم متفاوت هستند. در روش های سینتیکی اندازه گیری ها در شرایط دینامیک<sup>۶۰</sup> صورت میگیرد که غلظت واکنش دهنده ها و محصولات پیوسته در حال تغییر است.

---

4-Guyard  
5-Wtiz  
6-Osmond  
7-Kolthoff and Sandell  
1-Dynamic



در روش های تعادلی اندازه گیری ها در زمانی صورت میگیرد که سیستم به تعادل رسیده است و بنابراین غلظتها در حالت ایستا<sup>۶۱</sup> هستند. شکل (۱-۲) تمایز بین دو روش فوق را نشان میدهد:



شکل (۱-۲) مقایسه روشهای سینتیکی و ترمودینامیکی ماده اولیه و b محصول واکنش

در روشهای تعادلی اندازه گیری در زمانهای بیشتر از  $t_e$  انجام میگیرد که غلظت واکنشگرها و محصول ثابت است. در حالی که اندازه گیری سینتیکی در فاصله زمانی بین صفر تا  $t_e$  انجام میگیرد که در این بازه زمانی غلظت مواد پیوسته در حال تغییر است و سرعت از بین رفتن و یا تشکیل آنها به عنوان پارامتر تجزیه ای اندازه گیری میشود.

#### ۱-۲-۴- مقایسه روش های سینتیکی و تعادلی

امتیازاتی که روشهای سینتیکی بر روشهای ترمودینامیکی دارند عبارتند از [۷۹]:

۱- با استفاده از روشهای ترمودینامیکی نمیتوان غلظت ترکیبات مشابه (ایزومرها) را اندازه گیری نمود. در حالی که سینتیک ترکیبات فوق با یک معرف مشترک با یکدیگر تفاوت دارد که به دلیل تفاوت کوچک ساختاری این ترکیبات است که باعث تفاوت انرژی فعالسازی میگردد. با کنترل عواملی مانند اثرات قطبی، اثرات فضایی، رزونانس و ... میتوان سرعت واکنش آنها را کنترل کرد.

۲- برخی از واکنش ها به دلیل اینکه زمان طولانی برای رسیدن به تعادل نیاز دارند و از طرفی با نزدیک شدن به پایان واکنش، سرعت واکنش های جانبی افزایش می یابد در حالت تعادل نمیتوان آنها را توسط روش های ترمودینامیکی بررسی کرد. از طرف دیگر ممکن است این واکنش ها به قدر کافی کمی نباشند، که در این حالت میتوان تجزیه سینتیکی را در مورد آنها به کار برد. بنابراین هر واکنشی که بتوان سرعت اولیه آن را اندازه گیری نمود در روش تجزیه سینتیکی قابل استفاده است.

۳- روشهای سینتیکی در مورد واکنشهای کاتالیزوری از روش های ترمودینامیکی مشابه انتخابی تر میباشند.  
۴- از روشهای سینتیکی تجزیه ای میتوان برای تعیین غلظتهای نسبتا زیاد و یا خیلی کم مواد استفاده کرد. یکی از جدی ترین مشکلات در روش های سینتیکی، نیاز به تکرار پذیری دقیق شرایط واکنش است، تا بتوان نتایج دقیق و تکرار پذیری را به دست آورد.

### ۲-۱-۳ طبقه بندی روشهای سینتیکی

روشهای سینتیکی را میتوان براساس معیارهایی از قبیل شیمی واکنشهای به کار رفته، به طریقه مخلوط کردن محلول واکنش دهنده ها و روش های اندازه گیری<sup>۶۲</sup> تقسیم بندی نمود. بر اساس شیمی واکنش های به کار گرفته میتوان روش های سینتیکی را به سیستم های هموزن<sup>۶۳</sup> و سیستم های غیرهموزن<sup>۶۴</sup> تقسیم بندی کرد. هر کدام از این سیستم ها را نیز میتوان به سیستم های کوچکتري تقسیم بندی کرد که این تقسیم بندی در جدول زیر (۱-۲) خلاصه شده است [۸۰]:

جدول (۱-۲) طبقه بندی روش های سینتیکی بر اساس شیمی واکنشها

- 
- 1-Measurement Approach
  - 2-Homogeneous System
  - 3-Heterogeneous System

## ۱- سیستم های هموزن

### ۱-۱- روشهای کاتالیزوری

۱-۱- الف- روش های آنزیمی که از آنزیمهای محلول استفاده میکنند

۱-۱- ب- روشهای غیر آنزیمی (کاتالیز کردن واکنشهای ردوکس توسط یونهای فلزات واسطه)

### ۲-۱- روشهای غیر کاتالیزوری

۲-۱- الف- تعیین یک جزء تنها

۲-۱- ب- تعیین مخلوط چند جزئی (روش های سرعت واکنش دیفرانسیلی)

۳-۱- روشهای لومینسانس شیمیایی

## ۲- سیستم های غیر هموزن

۱-۲- روشهای سینتیکی بر مبنای واکنشهای الکترودی

۲-۲- روشهای آنزیمی که از آنزیمهای تثبیت شده استفاده میکنند.

## ۲-۱-۴- سرعت واکنش و معادلات سینتیکی [۸۱]

تعیین مقدار یک گونه معین به روش سینتیکی براساس اندازه گیری مستقیم یا غیر مستقیم سرعت واکنش آن گونه قرار دارد، که شامل اندازه گیری تغییر غلظت محصول یا واکنشگر به صورت تابعی از زمان میباشد.

واکنش کلی  $R \rightarrow P$  را در نظر بگیرید. اگر غلظت (مولاریته)  $R$  را در زمان صفر و  $t$  به ترتیب با  $[R]_0$  و  $[R]_t$  نمایش دهیم متوسط سرعت مصرف  $R$  در محدوده زمانی صفر تا  $t$  عبارتست از:

$$\text{سرعت متوسط مصرف } R = \frac{-[R]_t - [R]_0}{t - 0} = \frac{-\Delta[R]}{\Delta t} \quad (1-2)$$

سرعت لحظه ای که از این پس آنرا سرعت می نامیم به غلظت مواد شرکت کننده در واکنش (یا فشار در مورد مواد گازی) دما و کاتالیزور بستگی دارد. واکنش بنیادی واکنشی است که مولکول های مواد اولیه آن تنها طی یک مرحله با هم ترکیب میشوند و محصولات تولید میگردند. اگر واکنش  $aA + bB \rightarrow P$  یک واکنش بنیادی باشد، در صورتی که ضرائب استوکیومتری  $a$  و  $b$  کوچکترین اعداد صحیح باشند سرعت متناسب خواهد بود با:

$$RATE \propto [A]^{\alpha} [B]^{\beta} \quad (2-2)$$

اکثر واکنشهای شیمیایی بنیادی نیستند، یعنی برای تبدیل مواد اولیه به محصولات باید چندین مرحله طی شود. چنین واکنشهایی را واکنشهای غیر بنیادی یا پیچیده می نامند. همان طور که مطرح شد عموماً سرعت واکنش با حاصلضرب غلظت ها متناسب است، یعنی برای واکنش کلی زیر داریم:



$$\frac{1}{V_j} \cdot \frac{d[J]}{dt} = k[A]^{\alpha} [B]^{\beta} [C]^{\gamma} \quad (3-2)$$

$[J]$  به معنی مولاریته  $J$  و  $V_j$  استوکیومتری ماده  $J$  می باشد و علامت آن برای محصولات مثبت و برای مواد اولیه منفی است. مقادیرهای  $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$  ... به مکانیزم واکنش بستگی دارد و باید به طور تجربی تعیین گردد.

ضریب  $k$  را ثابت سرعت می نامند و بیانگر سرعت واکنش در غلظت های واحد از واکنشگر ها میباشد.

بنابراین اگر معادله سرعت به صورت

$$\text{سرعت} = k[A]^{\alpha} [B]^{\beta} [C]^{\gamma} \quad (4-2)$$

باشد مرتبه کلی واکنش یا مرتبه واکنش<sup>۶۵</sup> عبارتست از:

$$\eta = \alpha + \beta + \gamma$$

مرتبه یا درجه واکنش یک پارامتر تجربی بوده و از نظر عددی میتواند برابر واحد، بزرگتر از واحد یا کسری باشد.

## ۲-۱-۴-۱- تعیین درجات جزئی و ثابت سرعت واکنش

برای تعیین معادله سرعت یک سیستم معین، درجات جزئی واکنش نسبت به متغیرهای موثر در فرآیند بایستی مشخص شوند. به این منظور و با توجه به اینکه فرم انتگرالی یا فرم دیفرانسیلی معادله سرعت باید در نظر گرفته شود، میتوان به ترتیب از روشهای انتگرالی و روشهای دیفرانسیلی (اندازه گیری سرعت اولیه<sup>۶۶</sup>) استفاده کرد. روشهای دیفرانسیلی بیشتر برای تعیین درجات جزئی به کار میروند. در حالی که روشهای انتگرالی اغلب برای تعیین ثابت سرعت مورد استفاده قرار میگیرند.

## ۲-۴-۱-۲ روشهای انتگرالی

تعیین درجه جزئی به وسیله روشهای انتگرالی شامل رسم فرم انتگرالی معادله سرعت برای یک درجه واکنش فرض شده قبلی میباشد. یعنی ابتدا باید یک درجه حدسی را در نظر گرفته و یک معادله سرعت انتگرال گیری شده فرضی برای واکنش نوشته سپس معادله سرعت رسم شود. اگر منحنی به دست آمده با درجه فرضی، بر منحنی تجربی منطبق شد واکنش از همان درجه فرض شده است در غیر این صورت درجه فرض شده درست نمیباشد. برای یک واکنش درجه اول فرضی معادله سرعت انتگرال گیری شده به صورت زیر است:

$$\ln[A]_t = \ln[A]_0 - k_A t \quad (۵-۲)$$

$[A]_t$  غلظت گونه در زمان  $t$  و  $[A]_0$  غلظت اولیه گونه و  $k_A$  ثابت سرعت واکنش می باشد. اگر به طریقه فتومتری با دنبال کردن محصول  $P$  واکنش مورد نظر پیگیری شود خواهیم داشت:

$$\ln(D_\infty - D_t) = \ln D_\infty - k_A t \quad (۶-۲)$$

که  $[A]_t = [P]_\infty - [P]_t$ ،  $[A]_0 = [P]_\infty$  و  $[P]$  و  $D$  (جذب) با یکدیگر متناسب هستند. اگر منحنی حاصل از رسم  $\ln(D_\infty - D_t)$  نسبت به زمان برای مقادیر مختلفی از  $[A]_0$  به صورت خطوط مستقیم و موازی با یکدیگر باشند، در این صورت واکنش مورد نظر نسبت به  $A$  از درجه اول است.

معادله (۶-۲) این امکان را فراهم میکند که ثابت سرعت  $k_A$  را بدون رسم گرافیکی محاسبه نمود. با جایگزین کردن  $\log$  به جای  $\ln$  داریم:

$$\log(D_\infty - D_t) = \log D_\infty - \frac{k_A t}{2.303} \quad (۷-۲)$$

$$k_A = \frac{2.303}{t} \log \frac{D_\infty}{D_\infty - D_t} \quad (8-2)$$

لذا با داشتن  $D_\infty$  و مقادیر  $D_t$  در چند فاصله زمانی مختلف میتوان مقدار متوسط  $k_A$  را محاسبه کرد. اگر ناپدید شدن گونه  $A$  به جای تولید محصول  $P$  در نظر گرفته شود در این صورت معادله (۷-۲) به صورت زیر در می آید:

$$\text{Log} D_t = \text{Log} D_0 - \frac{k_A t}{2.303} = \text{Log} \varepsilon_A l [A]_0 - \frac{k_A t}{2.303} \quad (9-2)$$

$D_0$  و  $D_t$  به ترتیب جذب های معادل با  $[A]_0$  و  $[A]_t$  هستند،  $\varepsilon_A$  ضریب جذب مولی  $A$  و  $l$  طول مسیر سل فتومتری است. از معادله فوق می توان  $k_A$  را محاسبه کرد.

$$k_A = \frac{2.303}{l} \log \frac{D_0}{D_t} \quad (10-2)$$

مقایسه دو رابطه به دست آمده برای محاسبه  $k_A$  بیانگر این است که روش ثبت گونه  $A$  سریعتر میباشد، زیرا نیاز به دانستن  $D_\infty$  که برای واکنشهای کند اندازه گیری آن وقت گیر است نمی باشد. ساده ترین معادله سرعت برای واکنشهای درجه دوم به صورت زیر است:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_A [A]^2 \quad (11-2)$$

با انتگرال گیری داریم:

$$\frac{1}{[A]_t} = \frac{1}{[A]_0} + k_A t \quad (12-2)$$

اگر تغییرات گونه  $A$  به روش فتومتری ثبت شود خواهیم داشت:

$$\frac{1}{D_t} = \frac{1}{D_0} + \frac{k_A t}{\varepsilon_A l} \quad (13-2)$$

استفاده از این معادله و مراحل تجربی شبیه واکنشهای درجه اول است.

## ۲-۱-۴-۳ روش دیفرانسیلی

برای یک واکنش با درجه جزئی n سرعت اولیه  $(\tan \alpha)$  به وسیله معادله سرعت به غلظت ارتباط داده میشود:

$$RATE = \tan \alpha = \frac{-d[A]}{dt} = k_A [A]^n \quad (14-2)$$

A گونه ای است که درجه جزئی واکنش نسبت به آن تعیین میشود و  $k_A$  ثابت سرعت واکنش شبه درجه n نسبت به A است. با گرفتن لگاریتم از طرفین واکنش فوق داریم:

$$\text{Log}(\tan \alpha) = \text{Log} k_A + n \text{Log}[A] \quad (15-2)$$

اگر  $\text{Log}(\tan \alpha)$  را بر حسب  $\text{Log}[A]$  رسم کنیم خط راست به دست میآید. شیب خط برابر با n است و از روی عرض از مبدا آن میتوان ثابت سرعت را به دست آورد.

## ۲-۱-۵- واکنشهای کاتالیزوری [۸۱]

### ۲-۱-۵-۱- تعریف کاتالیزور

برای اینکه بسیاری از واکنشها در شرایط مورد نظر با سرعت قابل قبول انجام شوند به کاتالیزور نیاز دارند. امروزه از کاتالیزور در آزمایشگاههای شیمی و صنایع شیمیایی به طور وسیعی استفاده میشود. کاتالیزور ماده ای است که:

۱- موجب افزایش سرعت واکنش میشود.

۲- گرچه در واکنش دخالت میکند لیکن بعدا بازیابی میگردد.

۳- مسیر واکنش را طوری تغییر میدهد که معمولا انرژی فعالسازی کاهش می یابد بدون این که موقعیت تعادلی تغییر کند.

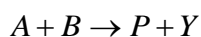
با توجه به این مفاهیم میتوان تعریف دقیق تری برای کاتالیزور ارائه کرد، کاتالیزور ماده ای است که انرژی فعالسازی<sup>۶۷</sup> واکنش را پائین می آورد بدون این که موقعیت تعادلی را تغییر دهد [۸۲].

کاتالیزورهای مصرف شده در طی چرخه کاتالیزوری که یکی از مراحل واکنش است دوباره تولید میگردند. بنابراین در عمل غلظت اولیه کاتالیزورها ثابت باقی می ماند. واکنش کاتالیز شده به وسیله گونه مورد اندازه

گیری به واکنش شناساگر<sup>۶۸</sup> معروف است. برخی از مواد نقش کاتالیزور منفی یا بازدارندگی دارند. با اضافه کردن کمی از این مواد به سیستم سرعت واکنش کاهش می یابد این مواد ممکن است کاتالیزور را مسموم کنند و یا این که با مواد حد واسط به صورت یک واکنش زنجیری ترکیب شوند. برای این که یک واکنش شناساگر برای اهداف تجزیه ای مفید باشد بایستی سرعت آن در مقایسه با واکنش کاتالیز شده فوق العاده کم باشد.

## ۲-۱-۵-۲- مکانیزمهای عمومی برای واکنش های کاتالیزوری

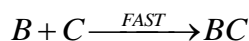
واکنش شناساگر زیر را در نظر میگیریم:



سرعت واکنش در اثر کاتالیزور C افزایش پیدا میکند. کاتالیزورها به دو طریق عمل میکنند [۸۳]:

۱- با یکی از واکنشگرها (مثلا B) کمپلکس تشکیل میدهند.

۲- با یکی از واکنشگرها (مثلا B) واکنش داده محصول P و شکل فعال شده ای از کاتالیزور را ایجاد میکنند در حالت اول کمپلکس کاتالیزور- واکنشگر (BC) با واکنشگر دیگر (A) بر همکنش کرده و محصول واکنش تولید شده و کاتالیزور دوباره تولید میگردد.



از این دو واکنش، واکنش اول سریعتر از واکنش دوم صورت میگیرد. بنابراین واکنش دوم مرحله تعیین کننده سرعت خواهد بود. با این وجود در برخی از فرآیندها عکس این موضوع رخ داده و مرحله اول در حالت پایا<sup>۶۹</sup> مرحله تعیین کننده سرعت است.

در این مکانیزم عدد اکسایش کاتالیزور تغییر نمیکند و شیبه مکانیزم واکنش اکسایش توسط پراکسید هیدروژن در محیط اسیدی است. واکنش هایی که در آنها هیدروژن پر اکسید وجود دارد، توسط فلزات با حالت اکسایش بالا که قادر به تشکیل کمپلکس های ناپایدار پروکسو<sup>۷۰</sup> هستند کاتالیزور میشوند. کمپلکسهای

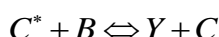
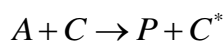
---

2-Indicator Reaction  
1-Steady State  
2-Peroxo



ناپایدار پروکسو تشکیل شده سریعاً به رادیکالهایی نظیر  $HO$  و  $HO_2$  تجزیه میشوند که این رادیکالها به عنوان اکسید کننده در واکنش عمل میکنند.

در حالت دوم کاتالیزور با جزء  $A$  واکنش داده و محصول  $P$  و شکل فعال شده کاتالیزور  $C^*$  را تولید میکنند که  $C^*$  در مرحله بعدی با  $B$  واکنش داده و  $C$  و  $Y$  را تولید میکند. محصول واکنش تولید شده و کاتالیزور دوباره تولید میشوند.



واکنش اول کند بوده و بنابراین مرحله تعیین کننده سرعت است.

اکثر واکنشهای کاتالیزوری از مکانیزم دوم پیروی میکنند، که در طی آن تغییری در حالت اکسایش -

کاتالیزوری ایجاد میشود. اصولاً این نوع واکنشها برای تعیین کاتالیزورها نسبت به سایر واکنشها دارای حساسیت بیشتری هستند. مکانیزم دوم وقتی وجود دارد که شرایط زیر برقرار باشد:

الف) پتانسیل سیستم کاتالیتیکی  $E_C$  بایستی بسیار مثبت تر از سیستم  $\frac{P}{A}$  بوده و بسیار منفی تر از پتانسیل

$$\text{جفت } \frac{B}{Y} \text{ باشد } \left( E_B > E_C > \frac{P}{A} \right).$$

ب) بایستی برهمکنش بین  $A$  و  $B$  از نظر سینتیکی مجاز نباشد، حتی اگر این برهمکنش از نظر ترمودینامیکی مجاز باشد. بعلاوه باید واکنش بین فرم فعال شده کاتالیزور و  $B$  بسیار سریع باشد.

## ۲-۱-۶- روشهای اندازه گیری یک گونه منفرد به روش سینتیکی - کاتالیتیکی

کاربرد هر روش سینتیکی برای اندازه گیری یک کاتالیزور مستلزم رسم تغییر خاصیت اندازه گیری شده به صورت تابعی از زمان میباشد، که این کار به صورت اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک انجام می پذیرد. منحنی های حاصل بسته به اینکه محصول واکنش یا واکنشگر دنبال میشود ممکن است افزایشی یا کاهششی باشند. سپس مقدار کاتالیزور با استفاده از یک منحنی درجه بندی که با روش مناسب برای هر مورد به دست می آید تعیین میشود.

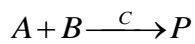
روشهای سینتیکی بر حسب درجه سینتیکی واکنش شناساگر به صورت زیر طبقه بندی میشوند:

۱- روشهای دیفرانسیلی یا شبه درجه صفر

۲- روشهای انتگرالی یا شبه درجه یک و دو

با هر دو روش تکنیکهای تانژانت<sup>۱</sup>، زمان متغیر<sup>۲</sup> و زمان ثابت<sup>۳</sup> میتوانند به کار روند. روش تانژانتی از نوع دیفرانسیلی به روش سرعت ابتدائی معروف است. در این طبقه بندی روشهای مبتنی بر منحنی های سینتیکی یا اندازه گیری های دوره القائی نیز قرار میگیرند. جدول (۲-۲) برای واکنشهای کاتالیز شده اغلب از روشهای دیفرانسیلی و انتگرالی استفاده می شود که در زیر بحث شده است:

برای واکنش کاتالیز شده زیر



$$\text{سرعت} = -\frac{d[A]}{dt} = k[A][C]_0 + k_1[A] \quad (۱۶-۲)$$

$$\text{سرعت} = \frac{d[P]}{dt} = k([A]_0 - [P])[C]_0 + k_1([A]_0 - [P]) \quad (۱۷-۲)$$

$[A]_0$  غلظت ابتدائی  $A$ ،  $[P]$  محصول تشکیل شده و  $[C]_0$  غلظت کاتالیزور می باشد.  $k$  و  $k_1$  به ترتیب ثابت سرعت واکنش های کاتالیز شده و کاتالیز نشده است.

برای هر مورد با توجه به اینکه واکنشگر دنبال میشود و از آنجائی که غلظت کاتالیزور در طی واکنش تغییر نمیکند واکنش باید شبه درجه یک باشد.

جدول (۲-۲) روشهای اندازه گیری

روشهای دیفرانسیلی
سرعت ابتدایی
زمان ثابت
زمان متغیر
روشهای انتگرالی
تانژانتی
زمان ثابت
زمان متغیر

- 1-Tangent
- 2-Variable Time
- 3-Fixed Time

## ۲-۱-۶-۱-۱-۱-۲ روشهای دیفرانسیلی

این روشها شامل واکنش های شبه درجه صفر هستند و اندازه گیری ها در شروع فرآیند یعنی زمانی که تغییرات غلظت مواد اولیه یا محصولات واقعا قابل صرف نظر کردن هستند انجام میشود.

## ۲-۱-۶-۱-۱-۲ الف-روش سرعت ابتدائی

اگر اندازه گیری ها در ابتدای واکنش انجام شوند  $[P]$  در مقایسه با  $[A]_0$  در رابطه (۲-۱۷) ناچیز خواهد بود. لذا

$$[P] = k([A]_0[C]_0 + k_1[A]_0)t = k'[C]_0t + k_1't \quad (۲-۱۸)$$

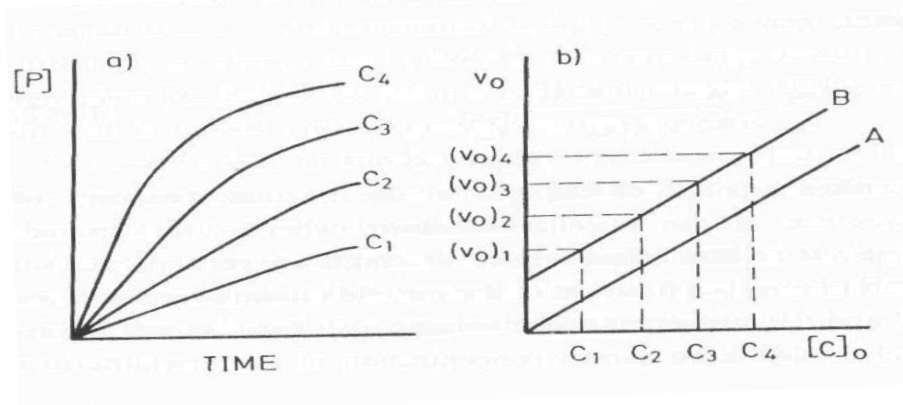
تغییر غلظت  $P$  برای خاصیت اندازه گیری شده به صورت تابعی از زمان به صورت شکل (۲-۲) خط راستی است که اساس اندازه گیری در این روش است. این روش، روش تانژانسی نیز خوانده میشود. زیرا شیب خط

حاصل فقط تابعی از غلظت کاتالیزور بوده و از معادله عمومی زیر تبعیت میکند.

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt} = \tan \alpha = \frac{\Delta[P]}{\Delta t} = k'[C]_0 + k_1' \quad (۲-۱۹)$$

بنابراین نمودار حاصل از رسم  $V_0$  بر حسب غلظت کاتالیزور  $[C]_0$  برای محلولهایی با غلظت مشخص از کاتالیزور خطوط مستقیمی خواهد بود (شکل ۲-۲-ب).

منحنی  $A$  برای حالت خاصی است که واکنش در غیاب کاتالیزور انجام نمیشود و منحنی  $B$  برای حالتی است که واکنش در غیاب کاتالیزور نیز پیش میرود.



### شکل (۲-۲) - روش سرعت ابتدایی

اشکال عمده این روش اندازه گیری شیب ابتدائی است که در هر روش گرافیکی باعث بروز خطا میشود. این روش مزبتهایی نیز در بردارد، از آن جمله میتوان گفت که چون مقدار محصول تولید شده در ضمن اندازه گیری کم است واکنش برگشت سرعت خالص را به طور جزئی کاهش میدهد. پیچیدگی حاصل از واکنشهای آهسته تر معمولا حداقل هستند. غلظت واکنشگر به مقدار کمی تغییر میکند و از سینتیک شبه درجه صفر پیروی میکند. برای واکنشهایی که سرعتهای آنها در این محدوده قابل استفاده است اندازه گیری سرعت اولیه دقیق تر از اندازه گیری سرعت در زمانهای طولانی است. زیرا سرعت در شروع واکنش بیشتر بوده و لذا نسبت علامت به نوفه<sup>۷۴</sup> بهبود می یابد. در نهایت از واکنشهایی که دارای ثابت های تشکیل کوچک بوده و برای واکنشهای تعادلی مناسب نیستند از این روش استفاده میشود.

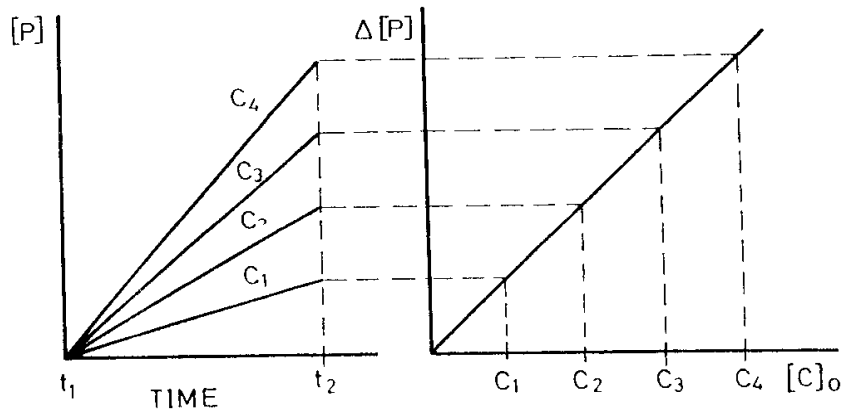
### ۲-۱-۶-۱-ب- روش زمان ثابت

در این روش ماده اولیه یا محصول در یک زمان از پیش تعیین شده بعد از شروع واکنش اندازه گیری میشود در این صورت معادله (۲-۱۹) به صورت زیر نوشته میشود.

$$\Delta[P] = (k'[C]_0 + k'_1)\Delta t = k'[C]_0\Delta t + k'_1\Delta t \quad (2-20)$$

اگر  $\Delta t$  ثابت باشد غلظت کاتالیزور مستقیما با تغییر در غلظت محصول واکنش شناساگر متناسب خواهد بود. جزئیات بیشتر در کاربرد این روش در شکل ۲-۳ نشان داده شده است.

اینکل و کروچ<sup>۷۵</sup> نشان دادند که در واکنشهای برگشت پذیر نیز  $\Delta[P]$  و  $[C]_0$  متناسب هستند و روش زمان ثابت هم از نظر تئوری و هم از نظر عملی برای واکنشهای شبه درجه یک ترجیح داده میشود [۸۴].



شکل (۲-۳) - روش زمان ثابت

## ۲-۱-۶-۱-ج - روش زمان متغیر

این روش که روش غلظت ثابت نیز نامیده میشود مستلزم اندازه گیری زمان لازم جهت حصول یک تغییر از پیش تعیین شده در محصول میاشد. برای این تکنیک معادله (۲-۴) به صورت زیر نوشته میشود.

$$\frac{1}{\Delta t} = \frac{k'[C]_0 + k'_1}{\Delta[P]} \quad (21-2)$$

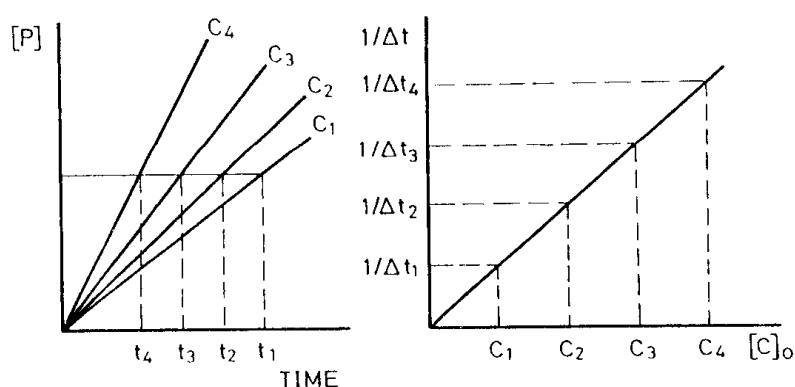
چون  $\Delta[P]$  مقدار ثابتی دارد رسم منحنی  $\frac{1}{\Delta t}$  در برابر  $[C]_0$  یک خط مستقیم خواهد شد که شیب آن برابر با  $k'/\Delta[P]$  است و عرض از مبدا آن  $k'_1/\Delta[P]$  است. اگر سرعت واکنش غیر کاتالیزوری ناچیز باشد ( $k'_1 = 0$ ) در این صورت رابطه (۲-۲۱) به صورت زیر نوشته میشود.

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0 \quad (22-2)$$

$$k'' = k'/\Delta[P]$$

که در این صورت عرض از مبدا منحنی حاصل برابر صفر خواهد شد.

در عمل برای رسم منحنی کالیبراسیون حد معینی برای پارامتر مورد نظر اندازه گیری در نظر گرفته میشود. سپس زمانهای لازم برای رسیدن به چنین حدی در غلظتهای متفاوت و معمولی از کاتالیزور اندازه گیری میشود. از رسم  $1/\Delta t$  در مقابل غلظت کاتالیزور منحنی کالیبراسیون به دست می آید.



شکل (۲-۴) - روش زمان متغیر

## ۲-۶-۱-۲- روشهای انتگرالی

وقتی نتوان از [P] در مقابل [A] در معادله (۲-۱۷) صرفنظر کرد، با انتگرال گیری از معادله (۲-۱۷) در فاصله زمانی  $\Delta t$  و در محدوده  $[A]_1$  تا  $[A]_2$  خواهیم داشت:

$$\ln\left(\frac{[A]_0}{[A]_2}\right) = (k[C]_0 + k_1)(t_2 - t_1) \quad (2-24)$$

$[A]_1$  تا  $[A]_2$  به ترتیب مقادیر  $[A]_t$  در زمانهای  $t_1$  و  $t_2$  هستند با فرض اینکه  $t_1 = 0$  باشد داریم:

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = (k[C]_0 + k)t \quad 46$$

(۲۵-۲)

وقتی واکنش از طریق یکی از واکنشگرها دنبال میشود  $t_1$  می تواند مخالف صفر باشد، در حالی که اگر واکنش از طریق محصول دنبال شود، در این صورت  $t_1 = 0$  بوده و معادله ساده شده (۲۵-۲) را می توان مورد استفاده قرار داد. این معادلات اصول روش های تانژانت، زمان ثابت و زمان متغیر هستند که در زیر شرح داده خواهند شد.

### ۲-۱-۶-۲-الف-روش تانژانت

از معادله (۲۴-۲) میتوان رابطه زیر را به دست آورد.

$$\text{Log}([A]_0 - [P]) = \text{Log}[A]_0 - \left[ \frac{1}{2.303} \right] (k[C]_0 + k_1)t \quad (26-2)$$

شیب های منحنی های  $\text{Log}([A]_0 - [P])$  در مقابل زمان در غلظت های متفاوتی از کاتالیزور تابعی از غلظت کاتالیزور میباشد. بنابراین با رسم شیب این خطوط در برابر غلظت کاتالیزور میتوان منحنی کالیبراسیون را به دست آورد.

در عمل میتوان  $\text{Log}[P]$  (یا لگاریتم جذب) را به صورت تابعی از زمان رسم کرد، که در این صورت خطوط مستقیمی با شیب های مثبت به دست می آید که از آنها در رسم منحنی درجه بندی میتوان استفاده کرد.

### ۲-۱-۶-۲-ب-روش زمان ثابت

از معادله (۲۴-۲) و با فرض اینکه  $\Delta t$  مقدار ثابتی است داریم:

$$\text{Ln} \frac{[A]_1}{[A]_2} = \Delta(\text{Ln}[A]) = k'[C] + k'_1 \quad (27-2)$$

که  $k' = k\Delta t$  و  $k'_1 = k_1\Delta t$  است. با رسم منحنی  $\Delta(\ln[A])$  در مقابل  $[C]_0$  در مقدار ثابتی از  $[A]_0$  منحنی درجه بندی به دست می آید. اگر واکنش به جای از بین رفتن  $A$  توسط اطلاعات مربوط به محصول واکنش  $[P]$  دنبال شود و اگر  $t_1 = 0$  باشد، آنگاه  $[A]_1 = [A]_0$  و  $[A]_2 = [A]_0 - [P]$  است.

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = k[C]_0 + k'_1 \quad (28-2)$$

با رسم منحنی  $\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]}$  در مقابل غلظت کاتالیزور میتوان منحنی درجه بندی را به دست آورد.

## ۲-۱-۲-۶-ج- روش زمان متغیر

با فرض اینکه  $\Delta A$  ثابت باشد از معادله (۲۴-۲) نتیجه میشود:

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0 + k'_1 \quad (29-2)$$

که در آن  $k'_1 = \frac{k_1}{\Delta(\ln[A])}$  و  $k'' = \frac{k}{\Delta(\ln[A])}$  است. این معادله در مواردی که واکنش از طریق واکنشگر یا

از طریق محصول دنبال میشود معتبر است. اغلب منحنی کالیبراسیون با رسم منحنی  $\frac{1}{\Delta t}$  به عنوان تابعی از غلظت های استاندارد کاتالیزور به دست می آید. نشان داده شده است که خطای اندازه گیری کاتالیزور

کمترین مقدار است که نسبت  $\frac{[A]_1}{[A]_2}$  در معادله (۲۸-۲) برابر با  $e$  باشد [۸۵]. در این صورت

$$\frac{1}{t_e} = k[C] + k_1 \quad (30-2)$$

در این رابطه  $t_e$  زمان مورد نیاز است تا اینکه  $\frac{[A]_1}{[A]_2}$  برابر با  $e$  گردد. رابطه فوق در این حالت اساس اندازه گیری های کاتالیزور است.

## ۲-۱-۷- روشهای عملی مطالعه سینتیک واکنشها [۷۹]

برای بررسی سینتیک یک واکنش و تعیین سرعت آن لازم است که تغییرات یکی از واکنش دهنده ها و یا محصولات نسبت به زمان دنبال گردد. برای اندازه گیری غلظت یک گونه در زمانهای مختلف میتوان از



روشهای شیمیایی یا فیزیکی-شیمیایی استفاده کرد. روشهای تجزیه شیمیایی تنها برای واکنشهای خیلی کند قابل استفاده هستند. برای واکنشهایی که در سرعت قابل ملاحظه انجام میگیرند لازم است که پیشرفت آنها به یکی از روشهای زیر متوقف شود:

۱- به وسیله سرد کردن ناگهانی مخلوط واکنش از طریق قرار دادن آن در یک حلال خیلی سرد.  
۲- به وسیله اضافه کردن یک کند کننده که با کاتالیزور تولید یک ترکیب پایدار کرده و باعث مسموم شدن آن گردد.

۳- توسط افزایش ناگهانی یک ماده که با یکی از واکنشگرها خیلی سریع وارد واکنش میشود.

۴- به وسیله تغییر ناگهانی در  $pH$  محلول و غیره.

بعد از اینکه واکنش به یکی از روشهای فوق متوقف گردید مخلوط واکنش آنالیز میگردد. در بین روشهای شیمیایی، روشهای حجم سنجی بیش از بقیه روشها استفاده میشود.

حسن روشهای شیمیایی این است که توسط این روشها غلظت مطلق واکنشگرها و یا محصولات تعیین میشوند. عیب این روشها این است که امکان اندازه گیری پیوسته غلظت وجود ندارد، و علاوه بر آن استفاده از این روشها وقت گیر است.

با استفاده از روشهای تجزیه شیمی-فیزیکی تغییر برخی از خصوصیات فیزیکی مانند دانسیته نوری، ضریب شکست، هدایت الکتریکی محلول [۸۶] جریان انتشار [۸۷] پتانسیل الکترود [۸۸] حجم گاز آزاد شده و غیره با زمان اندازه گیری میشود. مزایای این روشها عبارتند از:

سرعت بالای اندازه گیری- امکان اندازه گیری بدون به هم خوردن شرایط واکنش و امکان اندازه گیری پیوسته. در میان روشهای مطالعه واکنشهای شیمیایی در محلول ها روشهای رنگ سنجی و اسپکتروسکوپی به میزان زیادی به کار گرفته شده اند [۹۲-۸۹].

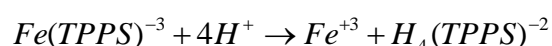
## ۲-۱-۸- واکنشها در محلول

روشهای متعددی برای بررسی سینتیکی واکنشها در محلول وجود دارد، که در اینجا چند روش با بیشترین کاربرد را بیان میکنیم. روشهای متداول شامل روشهای اسپکتروسکوپی به ویژه ماوراء بنفش، مادون قرمز، فلورسانس، پلاریمتری و NMR میباشد.

## ۲-۱-۸-۱- روشهای اسپکتروسکوپی

کاربرد روشهای اسپکتروفوتومتری در اندازه گیری سینتیکی بسیار متداول بوده و اساس این روشها نیز بسیار ساده است. شدت چند خط طیفی مشخصه یک گونه خاص بر حسب زمان اندازه گیری شده و شدت این خطوط طیفی بر حسب غلظت کالیبره میگردد. روشهای اسپکتروفوتومتری از محدوده های طیفی مادون قرمز، مرئی و ماوراء بنفش استفاده نموده و از هر دو روش جذبی و نشری نیز استفاده میشود. محدودیت عمده در این روشها زمان لازم برای اندازه گیری شدت خطوط طیفی است. این زمان در اسپکتوفوتومترهای معمولی حدود یک ثانیه است. ولی میتواند در اسپکتوفوتومترهای مادون قرمز با ثبات سریع تا حدود میکرو ثانیه نیز رسانده شود.

یکی از مثالهای جالب از اسپکتروسکوپی ماوراء بنفش - مرئی برای بررسی سینتیکی واکنشها در محلول واکنش زیر است:<sup>۶</sup>



طیفهای به دست آمده در ابتدا و انتهای واکنش به ترتیب با طیف های  $Fe(TPPS)^{-3}$  و  $H_4(TPPS)^{-2}$  که به طور مستقل به دست آمده اند مطابقت دارد که تائیدی بر انجام واکنش فوق است. بررسی سینتیک این واکنش از طریق اندازه گیری میزان جذب محلول در طول موج ۴۳۷/۵ نانومتر در زمانهای مختلف انجام میگردد. در این طول موج گونه  $H_4(TPPS)^{-2}$  دارای جذب ماکزیمم بوده و اختلاف زیادی بین طیف واکنشگر و محصول وجود دارد.

## ۲-۱-۹- روشهای اندازه گیری که بر پایه تغییر سرعت واکنشهای کاتالیتیکی در محلول هستند.

کاربرد مهم گسترش روشهایی که بر پایه تغییر سرعتهای واکنش کاتالیتیکی هستند، در تعیین گونه های آلی است. این روشها امکان دستیابی به حد تشخیص های پائین و حساسیت های بالا را در روشهای کاتالیزوری برای گونه های غیر کاتالیزوری افزایش میدهند. روشهای تجزیه ای مبتنی بر تغییر سرعت واکنشها بر اساس دو پدیده متضاد زیر هستند:

( a ) بازداری ( b ) فعالسازی

هر دو این فرآیندها به خوبی در واکنشهای کاتالیزوری آنزیمی و غیر آنزیمی به کار برده شده اند.

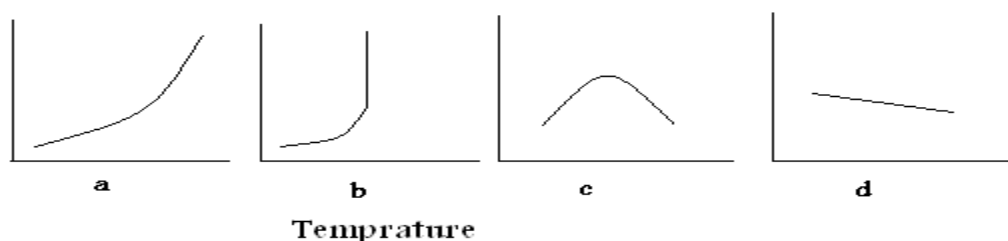
## ۲-۱-۹-۱- کاربرد بازدارنده

بازدارنده ها گونه های شیمیایی هستند که با کاتالیزور ترکیب میشوند تا برخی از گونه های کمپلکس را تشکیل بدهند. این کمپلکس میتواند نسبت به یون فلزی به تنهایی اثر کاتالیزوری کمتری را اعمال کند (بازداری جزئی)، یا کاتالیزور را کاملاً غیر فعال سازد (بازداری کامل). در هر دو مورد تاثیر بازدارنده بر سرعت واکنش با غلظت بازدارنده متناسب است و میتواند برای تعیین آن به کار رود. فرآیندی که در عمل برای نشان دادن کاهش سرعت واکنش در سیستم هایی که حاوی مقادیر ثابت از کاتالیزور هستند به کار میرود شامل اضافه کردن مقادیری از بازدارنده ها و سپس به دست آوردن منحنی های کالیبراسیون با استفاده از روش سرعت اولیه و یا روش تانژانت است. این روش دارای حد تشخیص نسبتاً خوبی است. اما دامنه خطی غلظت های قابل جوابگویی را محدود میکند [۷۶]

## ۲-۱-۱۰- عوامل موثر بر سرعت واکنشها [۹۳]

### ۲-۱-۱۰-۱- اثر دما [۹۴]

تابعیت سرعت واکنشها با ثابتهای سرعت واکنشهای مختلف، از دما متفاوت میباشد شکل (۲-۵).



شکل (۲-۵) - اثر دما بر سرعت واکنش در واکنشهای مختلف

منحنی a وابستگی دمایی آرنیوس<sup>۷۷</sup> را نشان میدهد. این مورد از معمولی ترین موارد میباشد و مورد بحث قرار میگیرد.

منحنی bدر واکنشهای انفجاری<sup>۷۸</sup>، منحنی cدر واکنشهایی از قبیل هیدروژناسیون کاتالیتیکی و واکنشهای آنزیمی و منحنی dدر واکنش NO با O<sub>2</sub> مشاهده میشود. منحنی های b تا d وابستگی دمایی غیر آرنیوسی<sup>۷۹</sup> را نشان میدهند و بیانگر مکانیزم های چند مرحله ای یا مکانیزم هایی که با افزایش دما تغییر میکند میباشند.

در حالت عمومی منحنی a سرعت واکنش با فاکتور ۲ تا ۳ به ازای ۱۰ درجه سانتی گراد افزایش دما افزایش می یابد. نتایج تجربی نشان میدهند که تابعیت سرعت واکنش با دما در این مورد از رابطه آرنیوس تبعیت میکند.

$$\frac{dLnk}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \quad (۳۱-۲)$$

که در آن R ثابت عمومی گازها، k ثابت سرعت و E<sub>a</sub> انرژی اکتیواسیون میباشد. با انتگرال گیری از رابطه ( ) خواهیم داشت:

$$Lnk = \frac{-E_a}{RT} + A \quad k = Ae^{E_a/RT} \quad (۳۲-۲) \text{ و } (۳۳-۲)$$

A فاکتور نمایی یا فاکتور فرکانس بوده و دیمانسیون آن با دیمانسیون ثابت سرعت یکسان است. با رسم

Lnk بر حسب 1/T میتوان مقادیر E<sub>a</sub> و A را به دست آورد.

## ۲-۱-۱-۲- اثر غلظت واکنشگرها [۹۴]

یکی از مهمترین مراحل در مطالعات سینتیکی تعیین اجزایی از واکنش می باشد که فعال سینتیکی<sup>۸۰</sup> هستند. گونه فعال سینتیکی ماده ای است که در اثر تغییر غلظت آن سرعت واکنش تغییر میکند. وابستگی سرعت واکنش به غلظت واکنش دهنده ها به صورت قانون جرم بیان میشود. قانون جرم بیانگر این است که سرعت واکنش با غلظت هر کدام از مواد شرکت کننده در واکنش که فعال سینتیکی هستند متناسب میباشد.

## ۲-۱-۱۰-۳- اثر حلال

تغییر ثابت دی الکتریک حلال به صورت زیر بر سرعت واکنشها موثر است:

۱- با افزایش ثابت دی الکتریک حلال، سرعت واکنش بین دو یون با بار مشابه افزایش می یابد.

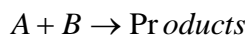
۲- با افزایش ثابت دی الکتریک حلال، سرعت بین دو یون با بار مخالف کاهش می یابد.

۳- سرعت واکنش بین دو گونه خنثی که یک ترکیب قطبی ایجاد میکنند با افزایش ثابت دی الکتریک افزایش می یابد.

۴- سرعت واکنش بین یک یون و مولکول خنثی با تغییر ثابت دی الکتریک حلال تغییر محسوسی نمی کند.

## ۲-۱-۱۰-۴- اثر قدرت یونی<sup>۸۱</sup> [۹۵]

تغییر ثابت های سرعت واکنش در مورد واکنش بین یونها، با تغییر قدرت یونی همانند وابستگی ثابت تعادل به قدرت یونی است. واکنش زیر را در نظر می گیریم:



در حلال آب در ۲۵ درجه سانتی گراد میتوان نوشت:

$$\text{Log}k = \text{Log}k_0 + 1.02Z_A Z_B I^2 \quad (۳۴-۲)$$

که در آن  $Z_A$  و  $Z_B$  به ترتیب بار گونه های  $A$  و  $B$  و  $I$  قدرت یونی است که به صورت زیر تعریف میشود:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2 \quad (۳۵-۲)$$

$C_i$  غلظت مولار یون  $i$  است.

با توجه به معادله (۳۴-۲) مشاهده میشود که اثر قدرت یونی در ثابت سرعت به مقادیر بار واکنش دهنده ها و علامت بارها بستگی دارد. مقدار ثابت سرعت با افزایش نیروی یونی در مورد واکنشهای بین یونها با بار یکسان افزایش می یابد و برای واکنشهای بین یونها با بار مخالف کاهش پیدا میکند. در مورد واکنشهایی که یکی از ذرات بدون بار باشند تغییر نخواهد کرد.

## ۲-۲-مقدمه

واژه کمومتریکس<sup>۸۲</sup> در اواخر دهه ۱۹۶۰ توسط دانشمند سوئدی به نام سوانت ولد<sup>۸۳</sup> معرفی گردید [۹۶]. در حقیقت ریشه کمومتریکس به سال ۱۹۶۹ برمی گردد که در آن سال جرز<sup>۸۴</sup>، کوالسکی<sup>۸۵</sup> و ایزنهور<sup>۸۶</sup> مجموعه ای از مقالات راجع به ماشین آموزش خطی<sup>۸۷</sup> در زمینه طبقه بندی طیف های جرمی با همپوشانی زیاد در مجله شیمی تجزیه منتشر کردند [۹۷ و ۹۸].

انتشار این مقالات روش جدیدی را در زمینه ی تبدیل حجم وسیع داده های شیمیایی به اطلاعات شیمیایی معنی دار گشود. سپس در سال ۱۹۷۲ نمادسازی کمومتریکس توسط ولد و کوالسکی مطرح شد [۹۹]. همکاری ولد از دانشگاه اوم<sup>۸۸</sup> سوئد و کوالسکی از دانشگاه واشنگتن آمریکا در سال ۱۹۷۴ منجر به تاسیس انجمن بین المللی کموتری ICS<sup>۸۹</sup> شد.

تعاریف مختلفی برای کمومتریکس ارائه شده است که به صورت زیر می باشد:

۱- تعریف ICS: روش ریاضی آماری- گرافیکی یا روش نمادی برای طراحی و انتخاب آزمایشها، روشهای اندازه گیری و کسب اطلاعات شیمیایی در مورد سیستم های شیمیایی، می باشد [۱۰۰].

۲- تعریف فرانک<sup>۹۰</sup> و کوالسکی: کمومتریکس یک تکنیک شیمی است که ریاضی- آمار و منطق صوری<sup>۹۱</sup> را برای اهداف زیر بکار می گیرد [۱۰۱]:

(a) طراحی یا انتخاب روشهای آزمایشگاهی بهینه

- 
- 1-Chemometrics
  - 2-Svant Wold
  - 3-Jurs
  - 4-Kowalasky
  - 5-Isenhour
  - 6-Linear Learning Machine
  - 7-Umea
  - 8-International Chemometrics Society
  - 9-Frank
  - 10-Formal Logic

(b) به دست آوردن اطلاعات در مورد سیستم‌های شیمیایی

(c) به دست آوردن بیشترین داده‌های شیمیایی از طریق تجزیه و تحلیل داده‌های شیمیایی

اولین مقاله با عنوان کمومتریکس در سال ۱۹۷۵ توسط کوالسکی [۱۰۲] و اولین کتاب در زمینه کمومتریکس در سال ۱۹۷۷ توسط انجمن شیمی آمریکا منتشر شد.

رشد و توسعه روزافزون کمومتریکس مرهون استفاده از رایانه در آزمایشگاهها، کامپیوترهای پیشرفته و نرم افزارهای مناسب است. اما با این وجود نمی توان از این داده‌ها اطلاعات مفیدی به دست آورد. مگر اینکه ابتدا با استفاده از کمومتریکس تجزیه و تحلیل داده‌ها صورت گرفته و سپس اطلاعات از آنها استخراج شود [۱۰۳]. کاربردهای کمومتریکس در زمینه‌های مختلف شامل: داده پردازی<sup>۹۲</sup>، بهینه سازی<sup>۹۳</sup>، بهبود سیگنال به نویز<sup>۹۴</sup>، کالبراسیون چند متغیره<sup>۹۵</sup>، الگوشناسی<sup>۹۶</sup>، دسته بندی<sup>۹۷</sup>، آنالیز فاکتورها<sup>۹۸</sup> (FA)، است [۱۰۲].

## ۲-۲-۱- کالبراسیون

در شیمی تجزیه کالبراسیون به فرآیندی اطلاق می‌شود که در آن پاسخ (سیگنال) را به خاصیتی از آنالیت که معمولا غلظت است توسط یک رابطه ریاضی مربوط می‌سازد. به دلیل پیچیدگی آنالیز نمونه‌های حقیقی از قبیل مواد بیولوژیکی و دارویی توسعه روزافزون در دستگاهوری و استفاده از کمومتریکس توسعه روش‌های مختلف کالبراسیون را موجب شده است. چنین روشهای جدیدی در گسترده‌تر نمودن تکنیک‌های تجزیه‌ای (خصوصا آنهایی که طبیعت اسپکتروسکوپی دارند) به منظور حل مسایل مشکلی که روزبه‌روز بر تعداد آنها افزوده می‌شود کمک شایانی نموده است [۱۰۴].

هر فرآیند کالبراسیون به دو مرحله مجزای کالبراسیون (مدل سازی) و پیش بینی تقسیم بندی می‌شود. در مرحله کالبراسیون در چند غلظت معلوم از محلولهای استاندارد آنالیت (متغیر مستقل  $x$ )، پاسخ (متغیر وابسته  $y$ ) اندازه‌گیری می‌شود. سپس مدلی از  $y$  بر حسب  $x$  و یا  $x$  بر حسب  $y$  ساخته می‌شود. در مرحله پیش‌بینی،

- 
- 1-Data Processing
  - 2-Optimization
  - 3-Signal to noise Enhancement
  - 4-Multivariate Calibration
  - 5-Pattern Recognition
  - 6-ClassiFication
  - 8-Factor Analysis

مدل ساخته شده مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و در صورت نیاز تغییراتی در آن ایجاد می‌شود. با اندازه‌گیری  $y$  برای نمونه مجهول غلظت آنالیت در آن بر اساس مدل انتخابی تعیین می‌گردد.

## ۲-۱-۱-۲-۲-کالیبراسیون یک متغیره<sup>۹۹</sup>:

در کالیبراسیون یک متغیره تنها یک متغیر وابسته و یک متغیر مستقل وجود دارد. بهترین نمونه آن استفاده از قانون بیر در اندازه‌گیری غلظت گونه‌ها به روش اسپکتروفتومتری جذب مولکولی است در ساده ترین حالت رابطه زیر برقرار است [۱۰۵]:

$$y = b_0 + b_1x + e \quad (۳۶-۲)$$

ضرائب  $b$  را می‌توان از رگرسیون حداقل مربعات محاسبه نمود. به مدل فوق مدل کلاسیک<sup>۱۰۰</sup> گفته می‌شود و خطای کالیبراسیون  $e$  به خطا در اندازه‌گیری پاسخ نسبت داده می‌شود. در مدل دیگری که در آن مدل معکوس<sup>۱۰۱</sup> گفته می‌شود فرض می‌شود که اندازه‌گیری دستگامی دقیق بوده و خطای کالیبراسیون مربوط به خطا در تهیه محلولهای استاندارد است. مدل معکوس به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$x = b_0 + b_1y + e \quad (۳۷-۲)$$

روشهای یک متغیره در صورتی که نمونه بسیار ساده بوده و عاری از هرگونه مزاحمت باشد مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین استفاده از کالیبراسیون یک متغیره نیازمند انتخاب روشهایی با گزینش پذیری بالا می‌باشد. جهت اعمال این روشها باید از سیستم مورد آنالیز شناخت کافی داشت. در صورت وجود روشهای گزینش پذیرتر (روشهای مختلف اسپکتروسکوپی اتمی)، روشهایی که به راحتی آنالیت را از مزاحمت جدا کنند (روشهای کروماتوگرافی)، یا روشهایی که سیگنال آنالیت را از سیگنالهای دیگر جدا نماید (اسپکتروسکوپی مشتقی)<sup>۱۰۲</sup> [۱۰۶ و ۱۰۷] و روشهای مختلف الکتروشیمیایی [۱۰۸ و ۱۰۹] می‌توان کالیبراسیون یک متغیره را با موفقیت بکار برد.



## ۲-۱-۲-۲-کالیبراسیون چند متغیره:

کالیبراسیون چند متغیره یک اصطلاح است که به توسعه یک مدل کمی برای پیشگویی صحیح ویژگیهای مورد نظر با استفاده از متغیرهای پیش گویی کننده اطلاق می شود.

توسعه مدل کالیبراسیون مراحل زیر را در برمی گیرد [۱۱۰]:

۱- بیان موضوع مورد مطالعه

۲- طراحی آزمایش

۳- انتخاب نوع مدل

۴- تخمین پارامترهای مدل

۵- ارزیابی پیشگویی مدل

کالیبراسیون چند متغیره وسیله مناسبی برای افزایش صحت و دقت می باشد.

در صورت عدم وجود روشهای گزینش پذیر با استفاده از کالیبراسیون چند متغیره می توان یک گونه را در حضور گونه های مزاحم، یا چند آنالیت را در کنار یکدیگر و بدون جداسازی آنالیز کرد.

اندازه گیری اسپکتروفتومتری چند گونه در مخلوط بر پایه اندازه گیری جذب در چندین طول موج انتخابی (حداقل برابر تعداد گونه ها در طول موجهای مناسب) براساس قانون بیر قرار دارد [۱۱۱]. اگر هدف اندازه گیری P گونه در m طول موج باشد و n محلول استاندارد از مخلوط گونه ها وجود داشته باشد قانون بیر به صورت زیر نوشته می شود:

$$R = CS + E \quad (۳۸-۲)$$

در رابطه فوق R یک ماتریس  $n \times m$  از داده های جذبی است. n تعداد ردیف های R (تعداد محلول استاندارد) و m تعداد ستون های R (طول موجها) می باشند. C یک ماتریس  $n \times p$  از غلظت گونه هاست. S ماتریس کالیبراسیون است که شامل جذب مولار  $^{۱۰۳}$  برای P گونه (ستونها) در m طول موج (ردیفها) است اگر جذب

مولار برای گونه‌ها معلوم باشد با اندازه‌گیری جذب برای نمونه مجهول و با استفاده از روابط زیر می‌توان غلظت نمونه مجهول را محاسبه کرد.

$$\hat{C}_{im} = rS^{-1} \quad (39-2)$$

$$\hat{C}_{im} = rS^T \left( S^T S \right)^{-1} \quad (40-2)$$

در این روابط ۲ بردار جذب برای نمونه مجهول است، علامت « $\wedge$ » در بالای بردارها یا ماتریسها نشان دهنده این است که آن کمیت از طریق مدل پیش‌گویی شده است. اگر  $p = m$  باشد از رابطه (۳۹-۲) و اگر  $m > p$  باشد از رابطه (۴۰-۲) استفاده می‌شود. در تمام موارد تعداد محلولهای استاندارد  $n$  همواره بیشتر از تعداد گونه‌ها  $P$  است.

معمولا در روشهای اسپکتروفتومتری جذب‌های مولار مشخص نیستند و به وسیله تکنیک‌های کالیبراسیون مناسبی محاسبه می‌گردند. در روش کالیبراسیون حداقل مربعات کلاسیک<sup>۱۰۴</sup> [۱۱۲] ماتریس  $S$  از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$\hat{S} = (C^T C)^{-1} C^T R \quad (41-2)$$

در صورتی می‌توان از این رابطه استفاده نمود که غلظت تمام گونه‌هایی که روی جذب تاثیر دارند اعم از آنالیت و یا گونه‌های مزاحم معلوم باشد و در مدل کالیبراسیون در نظر گرفته شود. از آنجایی که این روش محدودیتی را در طول موجهای انتخابی ایجاد نمی‌کند یک روش تمام طیف<sup>۱۰۵</sup> است. استفاده از اطلاعات تمام طیف ممکن است به پیش‌گویی‌های بهتری منجر شود.

روش دیگری که حداقل مربعات معکوس<sup>۱۰۶</sup> [۱۱۳] نام دارد از عکس قانون بیر استفاده شده و برای هرگونه یک کالیبراسیون مجزا انجام می‌گیرد.

$$C = R.S \quad (42-2)$$

$R$  طیف جذبی مخلوط و  $C$  بردار غلظت یک گونه در مخلوط است. حداقل مربعات برای  $S$  به صورت زیر است:

$$\hat{S} = (R^T R)^{-1} R^T . C$$

- 
- 1-Classical Least Squares
  - 2-Full Spectrum
  - 3-Inverse Least Squares

چون ستونهای R همبسته<sup>۱۰۷</sup> هستند اگر تعداد طول موجها از تعداد محلولهای استاندارد بیشتر باشد معکوس کردن ماتریس  $R^T R$  امکانپذیر نیست. در این روش دانستن غلظت گونه (های) مورد نظر در مخلوط کافی است و شناسایی سایر گونهها لازم نیست. عیب این روش این است که دقت آن نسبت به روش حداقل مربعات کلاسیک کمتر است که به دلیل طول موجهای کمتر می باشد. زیذا هر چه تعداد طول موجها زیادتر باشد تکرارپذیری بیشتر شده و در نتیجه دقت روش افزایش می یابد. مزیت آنالیز چند جزئی با استفاده از کالیبراسیون چند متغیره یکی سرعت بالای روش برای آنالیز ترکیبات مورد نظر در مخلوط و دیگری عدم نیاز به مراحل جداسازی می باشد [۱۱۴]. این روش ها نتایج رضایت بخشی را در آنالیز داده های اسپکتروفتومتری [۱۱۵ و ۱۱۱]، اسپکتروفلوریمتری [۱۱۶ و ۱۱۷] اسپکتروسکوپی نشر ICP [۱۱۸]، روش های ولتامتری [۱۱۹] و روش های پلاروگرافی [۱۲۰] نشان میدهد. در روش کالیبراسیون چند متغیره فرصت جدیدی برای استفاده یک طیف کامل به عنوان یک پیش‌گویی کننده نسبت به سیگنال در تک طول موج بهینه است [۱۱۰].

## ۲-۲-۲-۲- طبقه بندی روشهای کالیبراسیون

یکی از روش های کالیبراسیون روش تک متغیره - چند متغیره می باشد که این روش زیر مجموعه هایی همانند PCR، ILS، CLS، MLR و PLS را در بر دارد [۱۲۱].

## ۲-۲-۲-۱- آنالیز جزء اصلی<sup>۱۰۸</sup>

PCA اولین بار توسط دانشمندان علم رفتار بکار گرفته شده است [۱۲۲]. اساس این روش به مقاله ای از پیرسون<sup>۱۰۹</sup> در مورد خطوط عمود رگرسیون در سال ۱۹۰۱ برمی گردد. توسعه واقعی این روش در سال ۱۹۹۳ به وسیله هوتلینگ<sup>۱۱۰</sup> انجام شده است [۱۲۳]. یکی از دلایل استفاده از PCA حجم بسیار بزرگ داده‌هاست که با استفاده از تکنیک‌های اندازه‌گیری و کامپیوترهای مدرن به دست آمده‌اند. PCA این توانایی را دارد که یک ماتریس داده در ابعاد بزرگ را به ماتریسهای کوچکتری تبدیل کند [۱۲۴-۱۲۶]. داده‌های شیمیایی منابع

---

4-Correlated  
1-Principle Component Analysis (PCA)  
2-Pirson  
3-Hotteling

زیادی از تغییرات<sup>۱۱۱</sup> را در بردارند که این تغییرات مربوط به تغییر در ترکیب نمونه‌ها و تغییرات ناشی از تغییر تدریجی در سیستم اندازه‌گیری و نوفه است. PCA این توانایی را دارد منابع تغییرات را از هم جدا کرده و داده‌ها را به صورت یک ترکیب خطی از مشاهدات اصلاح نماید. در نتیجه پیچیدگی داده‌های زیاد کاهش یافته و مسایل تجزیه‌ای آسان می‌شود.

اگر فرض شود که یک ماتریس  $R$  با ابعاد  $n \times m$  از داده‌ها وجود داشته باشد با بکاربردن تکنیک PCA، مجموعه به دو ماتریس کوچکتر تبدیل می‌شود که یکی از آنها ماتریس امتیاز<sup>۱۱۲</sup> ( $T$ ) و دیگری ماتریس بارگیری<sup>۱۱۳</sup> ( $P$ ) نام دارد [۱۲۶ و ۱۲۷].

$$R = TP + E \quad (۴۴-۲)$$

ماتریس امتیاز ( $T$ ) یک ماتریس با ابعاد  $n \times f$  است که  $f$  تعداد اجزای اصلی را نشان می‌دهد. خصوصیات ماتریس امتیاز ( $T$ ) به قرار زیر است:

- ۱- تعداد ردیف‌هایش برابر با تعداد ردیف‌های ماتریس اولیه (تعداد نمونه‌ها) است.
  - ۲- تعداد ستون‌هایش برابر با تعداد فاکتورهای معنی‌دار<sup>۱۱۴</sup> (تعداد اجزای موجود در نمونه اصلی) از داده‌هاست و هر عددی بزرگتر از ۱ می‌تواند باشد.
  - ۳- مجموع مربعات عناصر هر ستون امتیاز برابر با مقدار ویژه<sup>۱۱۵</sup> است که هر چه مقدار ویژه بزرگتر باشد آن جزء مهمتر است.
- ماتریس  $P$  یک ماتریس  $f \times m$  است که به آن ماتریس بارگیری و به ردیف‌های آن بردارهای بارگیری می‌گویند. ردیف‌های  $P$ ، نسبت به هم متعامد می‌باشند که به تعداد ویژه این بردارها جزء اصلی گفته می‌شود.
- خصوصیات ماتریس بارگیری به قرار زیر است:
- ۱- تعداد ردیف‌هایش برابر با تعداد فاکتورهای معنی‌دار از داده‌هاست (هر سطر متعلق به یک PC است).
  - ۲- تعداد ستون‌هایش برابر با تعداد ستون‌های ماتریس داده‌های اولیه است (عموماً تعداد طول موجها).

۳- مجموع مربعات عناصر هر ستون برابر واحد است که در این صورت PCها توسط سه مورد زیر مشخص می‌شود:

(a) یک بردار امتیاز  $t_a$  که ستون  $a$  ماتریس T است.

(b) یک بردار بارگیری  $P_a$  که سطر  $a$  ماتریس P است.

(c) یک مقدار ویژه  $g_a$  که به وسیله رابطه زیر بیان می‌شود:

$$g_a = \sum_{j=1}^L t_{ja}^2 \quad (۴۵-۲)$$

مجموع مقدار ویژه‌های تمام اجزا معنی دار تقریباً برابر مجموع مربعات داده‌های اولیه است. اجزاء اصلی اغلب از نظر فضایی توضیح داده می‌شوند هر طیف را می‌توان یک نقطه در فضای  $m$  بعدی در نظر گرفت که هر محور،  $m$  مختصه هر طول موج را مشخص می‌کند. مثلاً اگر ۲۵ طیف در ۱۰۰ طول موج داشته باشیم هر طیف به صورت یک نقطه در فضای ۱۰۰ بعدی تصور می‌شود و بنابراین ۲۵ نقطه در فضای ۱۰۰ بعدی ایجاد می‌شود.

اولین جزء اصلی ( $PC_1$ ) نامیده می‌شود که می‌توان گفت  $PC_1$  بیشترین تغییرات ممکن در داده‌ها را بیان می‌کند به عبارتی  $PC_1$  بیشترین اطلاعات را دارا می‌باشد  $PC_1$  یک متغیر پنهان<sup>۱۱۶</sup> نامیده می‌شود و متغیر-های اولیه متغیرهای آشکار<sup>۱۱۷</sup> نامیده می‌شوند [۱۲۸].

ماتریس امتیاز فاصله در طول خطی که بیشترین تغییرات در داده‌ها را در بر دارد بیان می‌شود و ماتریس‌های بارگیری جهت (زاویه) این خط مستقیم را نشان می‌دهند. به عنوان مثال اگر یک ترکیب در یک سری از طیف‌ها وجود داشته باشد نقاط تقریباً روی یک خط راست خواهند افتاد. زیرا شدت هر طیف مستقیماً با غلظت آن رابطه دارد. این فاصله امتیاز مربوط به جزء اصلی است.  $PC_2$  جهت بزرگترین مقدار باقی‌مانده حول  $PC_1$  است، که از لحاظ ریاضی عمود بر  $PC_1$  است. اگر دو ترکیب در یک سری از طیف‌ها وجود داشته باشد دو جزء اصلی PC محاسبه می‌شود. در نهایت می‌توان گفت که به ازای هر ترکیب یک جزء اصلی محاسبه می‌شود.

به طور ایده آل PC محاسبه شده که تشکیل دو محور در یک صفحه را می‌دهند برای ده ترکیب ده PC محاسبه می‌شود که یک زیر فضای دو بعدی از فضای چند بعدی داده‌های اولیه را به ما نشان می‌دهد. خصوصیت مهم دیگر اجزای اصلی اورتوگونال بودن آنهاست. از نظر ریاضی معنای آن این است که:

$$\sum_{i=1}^L P_{ai}P_{bi} = 0 \quad (46-2)$$

$$\sum_{i \neq j} t_{ia}t_{ib} = 0 \quad (47-2)$$

یا اینکه برای دو جزء  $a, b$  با استفاده از نمایش برداری داشته باشیم:

$$P_a P_b = 0 \quad t_a t_b = 0$$

. آنالیز اجزاء اصلی برای کاهش تعداد متغیرهای اولیه به متغیرهای کاهش یافته کمتری بکار می‌رود. که به این ترتیب مهمترین و معنادارترین اجزاء اصلی را نگه داشته و بقیه را حذف می‌کند. در این صورت علاوه بر این که ابعاد ماتریس کاهش می‌یابد نویز نیز حذف می‌گردد [۱۲۸].

از کاربرد PCA در شیمی آنالیز داده‌ها مانند آنالیز بردار ویژه، تجزیه بردار ویژه، تجزیه مقدار مجرد، SVD<sup>۱۱۸</sup> و ... را می‌توان نام برد.

## ۲-۲-۲-۲-۲ رگرسیون اجزاء اصلی<sup>۱۱۹</sup>

روش دیگر کالیبراسیون چند متغیره رگرسیون جزء اصلی PCR است [۱۲۹-۱۳۰]. در این روش ترکیبی از PCA و حداقل مربعات معکوس است. هدف این روش به وجود آوردن مدلی بین غلظت ترکیبات سازنده و اجزای اصلی یک ماتریس است.

در مرحله کالیبراسیون بجای ماتریس R از یک ماتریس امتیاز (T)R استفاده می‌شود. ابتدا با استفاده از PCA ماتریس R به دو ماتریس با ابعاد کوچکتر P و T تجزیه شده و سپس مدل حداقل مربعات معکوس به صورت زیر ساخته می‌شود:

$$C = TS + E \quad (48-2)$$

$$\hat{S} = \left( T^T T \right)^{-1} T^T C$$

1-Singular Value Decomposition(SVD)  
2-Principle Component Regression(PCR)

در PCR با دور ریخته شدن نوپز به دلیل متعامد بودن ستونهای T، مشکلی در معکوس نمودن ماتریس  $T^T T$  وجود ندارد بنابراین PCR به عنوان یک روش تمام طیف است.

اگر از تمام بردارهای ویژه برای محاسبه P و T استفاده شود جوابی که از PCR به دست می آید مشابه روش حداقل مربعات معکوس است.

در PCR در مرحله محاسبه T و P اطلاعات موجود در ماتریس غلظت (C) در نظر گرفته نمی شود و هیچ نوع همبستگی بین C و T وجود ندارد و این یکی از معایب PCR است. همچنین در محاسبه تعداد فاکتورها ممکن است یک سری اطلاعات مفید حذف شده و یا مقداری از نوپز در داده ها باقی بماند.

## ۲-۲-۳- کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی (PLS)

به منظور برطرف کردن مشکلات موجود در روش PCR روش PLS توسط ولد در سال ۱۹۷۰ ابداع گردید [۱۳۰] و کاربرد اصلی این روش در شیمی برای اولین بار حدود سال ۱۹۷۹ یا ۱۹۸۰ بود [۱۳۱]. روشی که برای کالیبراسیون PLS انجام می شود مانند روشی است که برای کالیبراسیون PCR مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین مراحل PLS به وسیله یک سری کوچک از فاکتورهای اورتوگونال است که این فاکتورها از متغیرهای پیش گویی کننده ساخته شده اند. اختلاف اساسی PLS و PCR در روش تعیین فاکتورهاست. در روش PLS فاکتورها تنها از طریق واریانس داده های پیش گویی کننده تعیین نمی شوند بلکه همبستگی فاکتور PLS با متغیری که پیش گویی می شود نیز در نظر گرفته می شود. یک فاکتور واریانس بالا از همان ابتدا در PCR نقش کمی دارد در حالی که در PLS چنین فاکتوری در ابتدا روی محاسبه واریانس بالا مهم است و در نهایت از طریق ضرائب رگرسیون کوچک  $q_a$ ، برای آن فاکتورها کنار گذاشته می شود. از آنجایی که در PLS چنین فاکتوری وجود ندارد روش PLS اغلب فاکتورهای کمتری از PCR در یک سری یکسان از داده ها دارد [۱۳۲].

یکی از مزایای روش PLS این است که خطاها را به داده های غلظتی و داده های طیفی نسبت می دهد و همزمان روی C و R عمل آنالیز اجزای اصلی صورت می گیرد. روشهایی از جمله PCR داده های غلظتی را عاری از خطا می داند.

کالیبراسیون PLS سیستم چند جزئی به دو شکل زیر انجام می‌گیرد:

۱- رگرسیون جداسازی برای هر آنالیت PLS 1

۲- رگرسیون برای تمام گونه‌ها PLS 2

### ۲-۲-۳-الف- کالیبراسیون PLS 1

روش کالیبراسیون PLS1 نوعی از روش حداقل مربعات جزئی است که بیشترین کاربرد را دارد اگر چه الگوریتم‌های زیادی برای آن نوشته شده است ولی الگوریتم اصلی آن توسط ولد [۱۳۳] و مارتینز [۱۳۴] ارائه شده است. در PLS 1 برای هرگونه یک کالیبراسیون مجزا در نظر گرفته می‌شود. مدل‌های زیر از PLS به دست آمده است:

$$R = TP + E \quad (۵۰-۲)$$

$$C = UQ + F \quad (۵۱-۲)$$

در PLS 1 مراحل تجزیه کردن به دو ماتریس P و T برمی‌گردد که این ماتریس‌ها ستونهای اورتونرمال<sup>۱۲۰</sup> دارند. در این روابط T و U را ماتریس‌های امتیاز و P و T ماتریسهای بارگیری به ترتیب متعلق به R و C هستند. ماتریسهای E و F نیز خطاهای موجود در روش را با استفاده از حداقل مربعات معکوس نشان می‌دهند. در این صورت دو حالت برای R و C وجود خواهد داشت:

۱- منابع تغییراتی که در R وجود دارد هم ارز منابع تغییرات در C خواهد بود که این مورد از ایده آل ترین روشهاست.

۲- حالتی که در آن منابع تغییرات C, R هم ارز نباشند به عبارتی  $T \neq U$  باشد U و T توسط رابطه زیر به هم مرتبط می‌شوند:

$$U = bT + \varepsilon \quad (52-۲)$$

به b رابطه داخلی بین U, T گفته می‌شود



یکی از مزایای روش PLS این است که می‌توان یک ماتریس امتیاز را در نظر گرفت که به صورت مشترک برای داده‌های C و R بکار گرفته شود. مقدار ویژه که در حقیقت مجموع امتیازهای هر جزء است در روش PLS و PCR با یکدیگر متفاوت است.

هر جزء PLS را می‌توان برای تخمین داده‌های غلطتی و طیفی بکار برد که هر جزء سه مورد زیر را در بردارد:

۱- بردار امتیاز طیفی T

۲- بردار بارگیری طیفی P

۳- مقدار بارگیری طیفی Q

از آنجایی که در PLS هر جزء متوالی اورتوگونال است محاسبه غلظت به سادگی امکان‌پذیر است این کار از طریق جمع کردن Q, T برای هر جزء متوالی حاصل می‌شود.

یکی از اهداف PLS تقریب R از طریق کمترین تعداد از ترکیبات مورد نظر است تا اینکه بتوان غلظت آنالیت مورد نظر را پیشگویی کرد.

## ۲-۲-۳-۲-۳-۲-۲-۲ NIPALS<sup>۱۲۱</sup>

الگوریتم‌های مختلف جهت محاسبه فاکتورهای PLS ارائه شده است [۱۳۹-۱۳۵]. یکی از الگوریتم‌های گزارش شده استفاده از روش NIPALS در PCA می‌باشد که توسط توماس و کوالسکی [۱۳۵] گزارش شده است.

NIPALS الگوریتمی برای استخراج مستقیم مقدار ویژه‌ها و بردار ویژه‌ها از داده‌ها بدون نیاز به ضرب اولیه ماتریس داده‌ها در معکوس این ماتریس می‌باشد.

برای تشریح اصول NIPALS از تجزیه مقدار مجرد استفاده می‌کنیم. این روش در سال ۱۹۸۷ توسط لوربر<sup>۱۲۲</sup> و کوالسکی گزارش شده است [۱۴۰].

NIPALS الگوریتمی است که بارها تکرار می‌شود و بردارهای بارگیری (بردار ویژه) ترتیب سهم آنها در واریانس و تغییرات در طیف‌های کالیبراسیون استخراج می‌کند.

---

1-Nonlinear Iterative Partial Least Squares  
2-Lorber

پس از اینکه اولین بردار بارگیری تعیین شد آن بردار از سری کالیبراسیون حذف می‌شود و عملیات مجدداً تکرار می‌شود تا اینکه مقدار مورد نظر بردارهای بارگیری محاسبه شوند [۱۲۱].

در این قسمت خلاصه‌ای از چگونگی ساخت مدل PLS به روش SVD شرح داده می‌شود. حل معادله برای C به صورت زیر است:

$$C = RS^+ \quad (53-2)$$

به  $S^+$  شبه معکوس<sup>۱۲۳</sup> یا معکوس مور-پنروز<sup>۱۲۴</sup>  $S$  گفته می‌شود. در صورتی که ستونهای  $S$  به طور خطی غیر همبسته باشند آنگاه داریم:

$$S^+ = \left( S^T S \right)^{-1} S^T \quad (54-2)$$

با ضرب کردن هر دو طرف معادله (۵۴-۲) در  $R^+$  داریم:

$$R^+ C = R^+ R S^+ = S^+ \quad (55-2)$$

بنا براین به جای معادله (۴۰-۲) معادله زیر برای محاسبه غلظت به کار می‌رود.

$$\hat{C}_{un} = r R^+ C \quad (56-2)$$

لوربر و کوالسکی جهت محاسبه شبه معکوس  $R$  ( $R^+$ ) از SVD استفاده کردند در SVD ماتریس  $R$  به سه ماتریس  $U$ ،  $S$  و  $V$  تجزیه می‌شود [۱۴۱].

$$R = VSU^T \quad (57-2)$$

$U$  و  $V$  به ترتیب ماتریس‌های امتیاز و بارگیری ماتریس  $R$  بوده و راست‌هنجار<sup>۱۲۵</sup> هستند. ماتریس  $S$  یک ماتریس قطری<sup>۱۲۶</sup> است که عناصر قطری آن مقادیر مجرد بوده و برابر مجذور ویژه ماتریس‌های  $R^T R$  و  $RR^T$  هستند. با استفاده از خاصیت راست‌هنجاری ماتریس‌های  $U$  و  $V$  رابطه زیر برای محاسبه  $R^+$  به دست می‌آید.

---

1-Pseudor Inverse  
2-Moor-Penrose Inverse  
3-Orthonormal  
4-Diagonal Matrix

$$R^+ = VS^{-1}U^T \quad (58-2)$$

بنا بر این میتوان با استفاده از SVD ابتدا مقدار  $R^+$  را محاسبه کرده و با جایگزینی آن در معادله (2-56) برای محاسبه  $C_{un}$  قرار داد. غالباً به خاطر خطاهای تصادفی رتبه<sup>۱۲۷</sup> ماتریس پاسخ (R) بیش از تعداد گونه‌های موجود در محلولهای کالیبراسیون (P) می‌باشد. در حقیقت رتبه R به m و n نزدیک شده و یا برابر m و n می‌باشد. اگر کل رتبه‌های ریاضی R برای محاسبه  $R^+$  در نظر گرفته شوند، تمام خطاهای اتفاقی حاصل از فرآیند کالیبراسیون به طور خودکار وارد محاسبات می‌شوند و محاسبات هم‌ارز محاسبات حاصل از حداقل مربعات کلاسیک خواهد بود. بنا بر این به دلیل انباشته شدن خطاهای اتفاقی موجود در ماتریس داده‌های جذبی در  $R^+$  تعیین شده به وسیله مدل، پیش‌بینی غلظت نمونه‌های مجهول با خطا همراه خواهد بود.

در گزارش کوالسکی و لوربر با استفاده از SVD یک ماتریس  $\hat{R}$  برای مدل PLS محاسبه شده است که نسبت به ماتریس R اولیه حاوی خطای کمتری بود، و از روی آن  $R^+$  را محاسبه نمودند. در این روش ابتدا ماتریس‌های امتیاز (T) و بارگیری (P) تحت یک فرآیند غیر تکراری برای مدل محاسبه شده و رابطه زیر نوشته شد:

$$R = TQP^T \quad (59-2)$$

چون ستونهای T و P راست‌هنجار هستند می‌توان Q را از رابطه زیر محاسبه نمود.

$$Q = T^T RP \quad (60-2)$$

با اعمال SVD روی Q داریم:

$$Q = U_q S_q V_q^T \quad (61-2)$$

که زیرنویس q نشان‌دهنده این است که تجزیه روی Q صورت گرفته است. با قراردادن معادله (2-61) در (2-59) و حل آن برای  $\hat{R}$  داریم:

$$\hat{R} = TU_q S_q V_q^T P^T \quad (62-2)$$

که در این رابطه  $\hat{R}$  یک تقریب از بردار  $R_0$  بر اساس الگوریتم PLS 1 است و همانند این است که R به سه ماتریس به صورت  $U_R = TV_q$ ،  $S_R = S_q$ ،  $V_R = V_q P$  تجزیه شده باشد.

بنابراین  $\hat{R}_0^+$  به صورت زیر به دست می‌آید:

$$\hat{R}_0^+ = PV_q S_q^{-1} (TV_q)^T \quad (۶۳-۲)$$

و با قراردادن این رابطه در رابطه (۵۶-۲) غلظت گونه مجهول محاسبه می‌شود.

## ۲-۲-۴- انتخاب تعداد فاکتور بهینه:

یک مسئله مهم در PLS یافتن تعداد فاکتورهای بهینه (f) برای مدل است. محاسبه فاکتورها در PLS یک فرآیند تکراری است در هر مرحله ابتدا برای T و P یک بردار محاسبه شده و غلظت گونه مجهول به وسیله مدل تعیین می‌شود. پس از یافتن مجموع مربعات خطا PRESS با محاسبه بردارهای دیگری برای T و P فرآیند تکرار می‌شود. در حالت ایده‌آل تعداد فاکتورها برابر تعداد آنالیت‌های موجود در یک نمونه است چنانچه تعداد فاکتورهای بهینه در محاسبات دخالت داده نشود خطای پیشگویی زیاد خواهد بود. برای یافتن تعداد فاکتور بهینه دو روش متداولتر زیر وجود دارد:

۱- روش ارزیابی تقاطعی

۲- روش مجموع مربعات خطا داده‌های ارزیابی

## ۲-۲-۴- الف- روش ارزیابی تقاطعی:

در این روش یک سری محلول استاندارد برای جداسازی وجود دارد. اگر n محلول وجود داشته باشد ابتدا روی n-1 نمونه مدلسازی انجام شده و غلظت نمونه nام به وسیله این مدل تعیین می‌شود.

سپس مقدار PRESS به وسیله رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

$$PRESS = \frac{\sum_{i=1}^m (C_i - \hat{C}_i)^2}{m} \quad (64-2)$$

$C_i$ : غلظت واقعی نمونه در نمونه آم

$\hat{C}_i$ : غلظت تخمین زده شده آنالیت در نمونه آم

$m$ : تعداد نمونه بکار رفته در سری پیشگویی

در این مورد  $m=1$  است همین مراحل برای  $n-1$  محلول دیگر انجام می‌شود.

### ۲-۲-۴-ب- مجموع مربعات خطا PRESS برای داده‌های ارزیابی:

در این روش دو سری محلول جداگانه برای کالیبراسیون و پیش‌بینی وجود دارد. ابتدا از روی نمونه‌های کالیبراسیون مدلسازی انجام شده و سپس غلظت نمونه‌های پیش‌بینی به وسیله مدل تعیین می‌شود. راه منطقی برای انتخاب بهترین تعداد فاکتور بهینه آن تعدادی است که کمترین PRESS را شامل شود [۱۴۱].

### ۲-۲-۵- پارامترهای آماری:

به منظور ارزیابی توانایی مدل برای پیشگویی چندین پارامتر در نظر گرفته می‌شود:

۱- خطای استاندارد پیش‌گویی

$$SEP = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{C}_i - C_i)^2}{n-1} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (65-2)$$

۲- خطای نسبی پیشگویی REP: که این پارامتر برای ارزیابی توانایی پیشگویی هر روش برای هر جزء است در حقیقت REP جذر مجموع مربعات خطا و پیشگویی برای هر جزء است و به صورت درصد میانگین غلظت‌های واقعی به صورت زیر است:

$$REP = \frac{100}{\bar{C}} \left[ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^m (C_i - \hat{C}_i)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (66-2)$$

در این رابطه:

$\bar{C}$ : میانگین غلظت‌های واقعی در سری پیشگویی

$n$ : مجموع کل نمونه‌های بکار رفته در سری پیشگویی

$C_i$ : غلظت واقعی آنالیت در نمونه  $i$ ام

$\hat{C}_i$ : غلظت تخمین زده شده برای آنالیت در نمونه  $i$ ام

۳- میانگین خطای نسبی که از فرمول زیر محاسبه میشود [۱۴۲]:

$$MAE = \frac{100}{n} \left( \sum_{i=1}^n |C_i - \hat{C}_i| \right) \quad (۶۷-۲)$$

۴- ضریب همبستگی  $R$ : این پارامتر نشان دهنده مقدار قرارگیری داده‌ها بر روی یک خط راست برای هر جزء است. و با فرمول زیر بیان می‌شود [۱۴۱]:

$$R = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \hat{C}_i)^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (۶۸-۲)$$

مسئله مهم در آنالیز چند جزئی تعیین همزمان دو یا تعداد بیشتری از اجزاء، در یک مخلوط بدون جداسازی اولیه است. روشهایی مانند H-PSAM, MLRA, PLSR, PCR در آنالیز چند جزئی بسیار موثر و کارآمد هستند اما یک روش جدید و ساده که اخیراً معرفی شده به نام روش میانگین گیری مرکزی می‌باشد که اساساً این روش نشأت گرفته از روش مشتق‌های متوالی است. با این تفاوت که بجای استفاده از طیف‌های مشتقی از طیف‌های نسبی استفاده می‌شود. این روش نیز همانند روشهای بالا برای آنالیز چندتایی و روشهای کالیبراسیون چند متغیره بکار می‌رود.

۲-۲-۲-۶- اصول نظری میانگین گیری مرکزی<sup>۲۸</sup>:

برای توضیح عبارت میانگین گیری مرکزی بردار سه بعدی زیر را در نظر گرفته و عمل MC حول ستون این ماتریس انجام می‌شود. به این نحو که ابتدا میانگین سه عدد را محاسبه کرده و سپس تک تک اجزای این ستون را از مقدار میانگین تفریق می‌کنیم [۱۴۳].

$$y = \begin{bmatrix} 5 \\ 1 \\ 3 \end{bmatrix} \quad (۶۹-۲)$$

$$MC(y) = \begin{bmatrix} 5 \\ 1 \\ 3 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 3 \\ 3 \\ 3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} +2 \\ -2 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (۷۰-۲)$$

از لحاظ ریاضی می‌توان یک مخلوط متشکل از سه جزء  $x, y, z$  را در نظر گرفت که اجزای این مخلوط هیچ برهم کشی با یکدیگر ندارند و هر ترکیب از قانون بیر تبعیت می‌کند.

$$A_M = \alpha_x C_x + \alpha_y C_y + \alpha_z C_z \quad (۷۱-۲)$$

در این معادله  $A_M$  بردار جذب مخلوط و  $\alpha$  ضرائب جذب مولی اجزاء و  $C$  غلظت اجزای تشکیل دهنده است. چنانچه معادله (۷۱-۲) بر مقدار  $\alpha_z$  مربوط به یک محلول استاندارد تقسیم شود معادله زیر حاصل می‌شود:

$$B = \frac{A_M}{\alpha_z} = \frac{\alpha_x C_x}{\alpha_z} + \frac{\alpha_y C_y}{\alpha_z} + C_z \quad (۷۲-۲)$$

این معادله بیان کننده اولین طیف نسبی حاصله است. اگر در بردار  $\alpha_z$  عددی صفر باشد نبایستی عمل تقسیم صورت گیرد.

اگر معادله (۷۲-۲) MC شود از آنجایی که MC عدد ثابت  $C_z$  برابر صفر است معادله (۷۳-۲) به صورت زیر حاصل می‌شود:

$$MC(B) = MC \left[ \frac{\alpha_x C_x}{\alpha_z} \right] + MC \left[ \frac{\alpha_y C_y}{\alpha_z} \right] \quad (۷۳-۲)$$

معادله (۷۳-۲) را بر مقدار  $MC \left( \frac{\alpha_y}{\alpha_z} \right)$  طیف‌های نسبی محلول‌های استاندارد  $(z, y)$  تقسیم کرده تا

$$D = \frac{MC(B)}{MC \left( \frac{\alpha_y}{\alpha_z} \right)} = \frac{MC \left[ \frac{\alpha_x C_x}{\alpha_z} \right]}{MC \left( \frac{\alpha_y}{\alpha_z} \right)} + C_y \quad (۷۴-۲)$$

دومین طیف نسبی به دست آید.

حال معادله (۷۴-۲) MC شده که حاصل آن به صورت زیر است:

$$MC(D) = MC \left[ \frac{MC\left(\alpha_x C_x / \alpha_z\right)}{MC\left(\alpha_y / \alpha_z\right)} \right] \quad (75-2)$$

معادله (75-۲) اساس ریاضی آنالیز چند جزئی است که برای تعیین غلظت هر ترکیب فعالی در محلول x بدون مزاحمت سایر گونه‌ها بکار می‌رود. این معادله نشان می‌دهد که یک رابطه خطی داخلی بین مقادیر MC(D) و غلظت X در محلول وجود دارد.

برای رسم منحنی کالیبراسیون x می‌توان MC(D) را نسبت به غلظت x رسم کرد. برای رسم منحنی‌های کالیبراسیون y, z باید MC حاصله از گونه y, z را نسبت به غلظت آنها رسم کرد.

#### ۲-۲-۲-۶-الف- خواص میانگین‌گیری مرکزی:

۱- اگر برداری در یک عدد اسکالر ضرب شود MC آن هم در آن عدد ضرب می‌شود.

۲- اگر یک عدد ثابت به بردار اضافه شود MC آن تغییر نمی‌کند.

۳- MC عدد ثابت صفر است.

۴- یک رابطه داخلی بین MC و غلظت وجود دارد.

۵- برای حساسیت، بیشتر مقدار MC در طول موج ماکزیمم یا مینیمم اندازه‌گیری می‌شود.

#### ۲-۲-۲-۶-ب- مزایای MC:

۱- نسبت به روشهای مشتقی مراحل مشتق‌گیری حذف شده است.

۲- با حذف مراحل مشتق‌گیری افزایش  $\frac{S}{N}$  ایجاد می‌شود.



۳- نیاز به مراحل جداسازی اولیه نداریم.

۴- نیاز به دانستن غلظت اجزای ترکیب نداریم.

۵- سریع و ساده است.

۶- دامنه خطی وسیعی دارد.

۷- صحت، دقت و حساسیت خوبی دارد.

۸- در سیستم‌های نوپزی قابل کاربرد است.

## فصل سوم

### بخش تجربی

۳-۱- اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری آسکوربیک اسید بر اساس اثر

بازداری آن در واکنش برومات با متیل رد

۳-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

کلیه مواد مورد استفاده در این پروژه موادی با خلوص تجزیه ای بوده که این مواد همراه با فرمول شیمیایی و نام شرکت سازنده آنها در جدول (۱-۳) آورده شده است. در تهیه تمام محلول ها از آب دو بار تقطیر شده استفاده شده است.

جدول (۱-۳) مواد شیمیایی مورد استفاده

شرکت	فرمول	ماده
Merck	HCl	هیدروکلریک اسید
Merck	NaBrO <sub>3</sub>	سدیم برومات
Merck	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	آسکوربیک اسید
Merck	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	متیل رد
Merck	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	اتانول

### ۳-۱-۲-تهیه محلول های مورد استفاده

محلول ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر آسکوربیک اسید از حل کردن ۰/۱۰۰۰ گرم آسکوربیک اسید در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق کردن آن تا حجم ۱۰۰ میلی لیتر به دست آمد. محلول آسکوربیک اسید به دلیل ناپایداری به صورت روزانه تهیه شد. سایر محلولهای استاندارد آسکوربیک اسید از رقیق کردن محلول استاندارد فوق تهیه گردید.

محلول ۱/۹۰ مولار هیدروکلریک اسید از حل کردن حجم مناسب از هیدروکلریک اسید غلیظ در یک بالن حجمی ۲۰۰ میلی لیتری تهیه شد و نسبت به Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> استاندارد گردید.

محلول ۱/۰۰×۱۰<sup>-۳</sup> مولار سدیم برومات از رقیق کردن محلول ۰/۰۵۰۰ مولار آن در یک بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری تهیه شد. محلول ۰/۰۵۰ مولار سدیم برومات از رقیق کردن ۰/۷۵۴۴ گرم سدیم برومات جامد در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد. سپس از این محلول برای تهیه محلول ۱/۰۰×۱۰<sup>-۳</sup> مولار آن استفاده گردید.

محلول ۱/۸۵×۱۰<sup>-۴</sup> مولار متیل رد از حل کردن ۰/۰۱۲۵ گرم متیل رد جامد در الکل و در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری و سپس رقیق کردن آن توسط الکل تهیه گردید.

برای بررسی مزاحمت سایر یونها، محلولهای لازم از حل کردن مقادیر مناسب از نمکهای نیترات، سولفات، سدیم و پتاسیم در آب، اسید یا باز تهیه شدند.

### ۳-۱-۳- دستگاه های مورد استفاده

برای ثبت طیفهای مرئی-ماوراء بنفش و اندازه گیری جذب در یک طول موج ثابت نسبت به زمان از یک اسپکتروفوتومتر مرئی-ماوراء بنفش شیمادزو مدل UV-۱۶۰ با یک جفت سل شیشه ای ۱/۰ سانتی متری استفاده شد. برای تثبیت دما از یک حمام آب n-BIOTEK مدل -۳۰۱ NB استفاده شد. برای اندازه گیری زمان از یک زمان سنج استفاده شد.

### ۳-۱-۴- رسم طیف جذبی برای تعیین طول موج و نشان دادن اثر بازدارندگی آسکوربیک اسید

برای ثبت طیف جذبی نمونه به طریق زیر عمل شد:

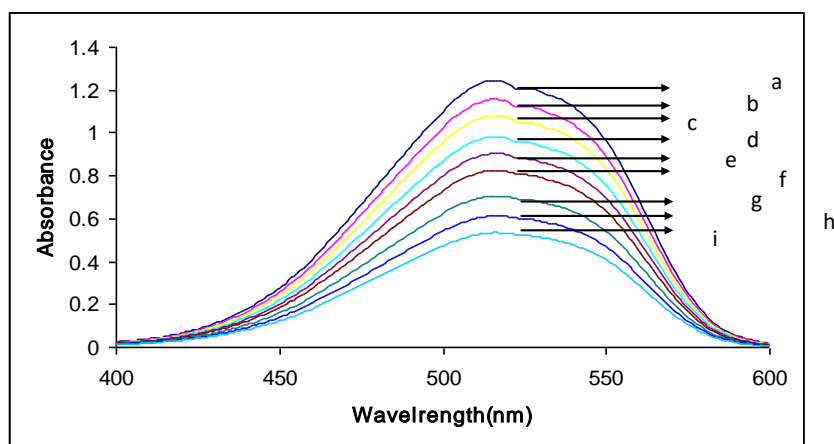
به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر متیل رد  $10^{-4} \times 1/85$  مولار، ۱/۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۱/۵ مولار، ۱/۰ میلی لیتر آسکوربیک اسید ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر، افزوده و به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن محلول دقیقاً ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل دستگاه وارد شده و سپس ۰/۲۰ میلی لیتر محلول برومات  $10^{-3} \times 1/100$  مولار به آن افزوده گردید. با افتادن اولین قطره برومات کرومومتر روشن شده و در مدت ۱۰ ثانیه محتویات سل یکنواخت و در داخل دستگاه قرار گرفت. طیف جذبی این محلول با فاصله زمانی هر کدام ۱۵ ثانیه در گستره طول موجی ۴۵۰-۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. برای گرفتن طیف جذبی محلول شاهد نیز به همین نحو عمل شد با این تفاوت که به آن آسکوربیک اسید افزوده نشد. طیف های حاصله در شکل های (۱-۳) و (۲-۳) آمده است. مقایسه دو طیف شاهد و نمونه نشان می دهد که با افزایش آسکوربیک اسید به این سیستم که به عنوان یک بازدارنده بر روی واکنش کاتالیزوری عمل می کند جذب برای مدت زمانی ثابت میشود که به آن زمان القایی گویند. بنابراین در حضور آسکوربیک اسید شدت باند جذبی در طول موج ماکزیمم ۵۱۴ نانومتر با گذشت زمان کندتر کاهش می یابد.

### ۳-۱-۵- روش کار

کلیه محلولها قبل از انجام هر آزمایش به مدت سی دقیقه در حمام آب با دمای  $20^{\circ}C$  قرار گرفتند. برای ساختن محلولهای شاهد و نمونه به ترتیب زیر عمل شد:

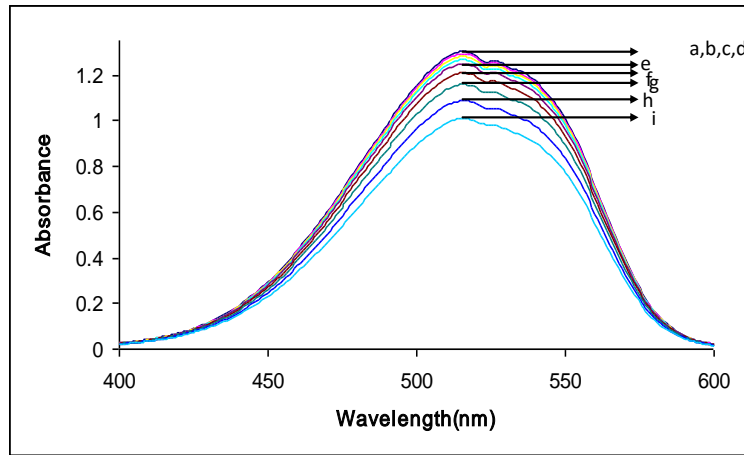
در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری حجم های مشخصی از متیل رد، هیدروکلریک اسید و آسکوربیک اسید ریخته شد. محلول حاصل توسط آب مقطر تا حجم ۱۰ میلی لیتر رقیق شد. پس از هم زدن و یکنواخت کردن محلول، دقیقاً ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل دستگاه اسپکتروفوتومتر منتقل شده، آنگاه توسط میکروپیپت، ۰/۲۰ میلی لیتر از محلول سدیم برومات به آن افزوده شده و با افتادن اولین قطره برومات کرومتر روشن گردید. در مدت ۱۰ ثانیه محلول داخل سل یکنواخت شده و به دستگاه اسپکتروفوتومتر منتقل شد. سپس تغییرات جذب نسبت به زمان در طول موج ۵۱۴ نانومتر در محدوده زمانی ۱۴۰-۱۰ ثانیه از شروع واکنش ثبت گردید.

برای ساختن محلول شاهد و ثبت تغییرات جذب آن نسبت به زمان نیز به همین نحو عمل شد، با این تفاوت که به آن آسکوربیک اسید افزوده نگردید.



شکل (۱-۳) تغییرات طیف جذبی سیستم متیل رد - برومات با زمان

شرایط: متیل رد  $2/77 \times 10^{-5}$  مولار، هیدروکلریک اسید  $0/150$  مولار، سدیم برومات  $1/00 \times 10^{-4}$  مولار، دمای  $20/0^{\circ}C$  فواصل زمانی (a) ۱۵ (b) ۳۰ (c) ۴۵ (d) ۶۰ (e) ۷۵ (f) ۹۰ (g) ۱۰۵ (h) ۱۲۰ (i) ۱۵۰ ثانیه از شروع واکنش.



شکل (۳-۱-۲) تغییرات طیف جذبی سیستم متیل رد - برومات - آسکوربیک اسید با زمان

شرایط: متیل رد  $10^{-5} \times 2/77$  مولار، هیدروکلریک اسید  $0/150$  مولار، آسکوربیک اسید  $2/0$  میکرو گرم بر میلی لیتر

سدیم برومات  $10^{-4} \times 1/00$  مولار، دمای  $20/0^{\circ}C$  و فواصل زمانی (a) ۱۵ (b) ۳۰ (c) ۴۵ (d) ۶۰ (e) ۷۵ (f) ۹۰ (g) ۱۰۵ (h) ۱۲۰ (i) ۱۵۰ ثانیه از شروع واکنش.

به منظور دستیابی به بهترین حد تشخیص و حساسیت نیاز بود پارامترهای مختلفی که روی سرعت واکنش و در نتیجه زمان بازداری آسکوربیک اسید بر واکنش برومات با متیل رد در محیط هیدروکلریک اسید دخالت دارند بهینه شوند.

### ۳-۱-۶- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای موثر بر واکنش

پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- غلظت هیدروکلریک اسید

۲- غلظت برومات

۳- غلظت متیل رد

۴- اثر دما

۵- قدرت یونی

روش یک متغیر در یک زمان<sup>۱۲۹</sup> برای بهینه سازی پارامترها به کار گرفته شد. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و فقط پارامتری که باید بهینه شود تغییر داده شد. برای بهینه کردن پارامترهای غلظتی نیز حجم های مختلفی از محلول گونه مورد نظر با غلظت مشخص و ثابت به مخلوط واکنش اضافه گردید و جهت ثابت ماندن حجم کلی محلول میزان آب مقطر به تناسب تغییر داده شد. برای حصول صحت لازم، هر اندازه گیری حداقل دو بار تکرار میشد. کمیت اندازه گیری شده در بهینه کردن متغیرهای فوق اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه ( $\Delta A_t = \Delta A_b - \Delta A_s$ ) در فاصله زمانی ۱۴۰-۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش بود.

### ۳-۱-۷- بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید

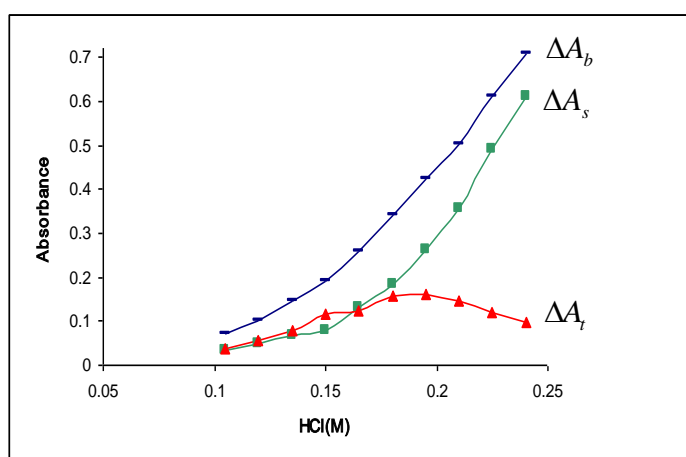
برای بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید روی سیگنال اندازه گیری شده در محدوده غلظتی

۰/۲۴۰-۰/۱۰۵ مولار به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه محلول نمونه، ابتدا در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری ۰ به ترتیب ۱/ میلی لیتر محلول متیل رد  $10^{-4} \times 2/77$  مولار حجم های متفاوتی از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۵ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول آسکوربیک اسید ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر افزوده شده و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن، ۲/۰ میلی لیتر از محلول فوق به سل دستگاه منتقل نموده و سپس توسط میکروپیپت، ۰/۲۰ میلی لیتر از محلول  $10^{-3} \times 1/00$  مولار سدیم برومات به آن افزوده و با افتادن اولین قطره برومات کرومومتر روشن شده و در زمان ۱۰ ثانیه محتویات سل یکنواخت شده و داخل دستگاه قرار گرفت. تغییرات جذب نمونه نسبت به زمان در فاصله زمانی ۱۴۰-۱۰ ثانیه از شروع واکنش در طول موج ۵۱۴ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین طریق عمل شد، با این تفاوت که به آن آسکوربیک اسید افزوده نگردید. نتایج حاصله در جدول (۲-۳) آورده شده است. این نتایج نشان میدهد که تا غلظت ۰/۱۸۰ مولار هیدروکلریک اسید به تدریج  $\Delta A_t$  افزایش یافته سپس از ۰/۱۸۰ تا ۰/۱۹۵ مولار ثابت مانده و در غلظت های بیشتر از ۰/۱۹۵ مولار سیگنال کاهش یافته است. نمودار تغییرات سیگنال اندازه گیری شده در غلظت های مختلف از اسید در شکل (۲-۳) نشان داده شده است. بنابراین غلظت ۰/۱۹۰ مولار اسید به عنوان غلظت بهینه برای اندازه گیری های بعدی انتخاب شد.

جدول (۲-۳) تاثیر غلظت هیدروکلریک اسید بر روی تغییرات جذب شاهد و نمونه

HCl غلظت(M)	$\Delta\bar{A}_b$	$\Delta\bar{A}_s$	$\Delta A_t = \Delta\bar{A}_b - \Delta\bar{A}_s$
۰/۱۰۵	۰/۰۷۱	۰/۰۳۵	۰/۰۳۶
۰/۱۲۰	۰/۱۰۳	۰/۰۴۷	۰/۰۵۶
۰/۱۳۵	۰/۱۴۶	۰/۰۶۸	۰/۰۷۸
۰/۱۵۰	۰/۱۹۳	۰/۰۷۷	۰/۱۱۶
۰/۱۶۵	۰/۲۵۸	۰/۱۳۳	۰/۱۲۵
۰/۱۸۰	۰/۳۴۲	۰/۱۸۴	۰/۱۵۸
۰/۱۹۵	۰/۴۲۴	۰/۲۶۴	۰/۱۶۰
۰/۲۱۰	۰/۵۰۳	۰/۳۵۶	۰/۱۴۷
۰/۲۲۵	۰/۶۱۱	۰/۴۹۰	۰/۱۲۱
۰/۲۴۰	۰/۷۰۹	۰/۶۱۲	۰/۰۹۷



شکل (۲-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت HCl

شرایط: محلول متیل رد  $10^{-5} \times 2/77$  مولار، محلول آسکوربیک اسید ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سدیم برومات

$10^{-4} \times 100$  مولار، دما  $20/0^{\circ}C$ ، طول موج  $514$  نانومتر، فاصله زمانی  $10-140$  ثانیه از شروع واکنش.

### ۳-۱-۸- بررسی اثر غلظت سدیم برومات

برای بررسی اثر غلظت سدیم برومات بر روی تغییرات جذب نمونه و شاهد در محدوده غلظتی  $5/0 \times 10^{-5}$  -  $2/0 \times 10^{-4}$  مولار به ترتیب زیر عمل شد:

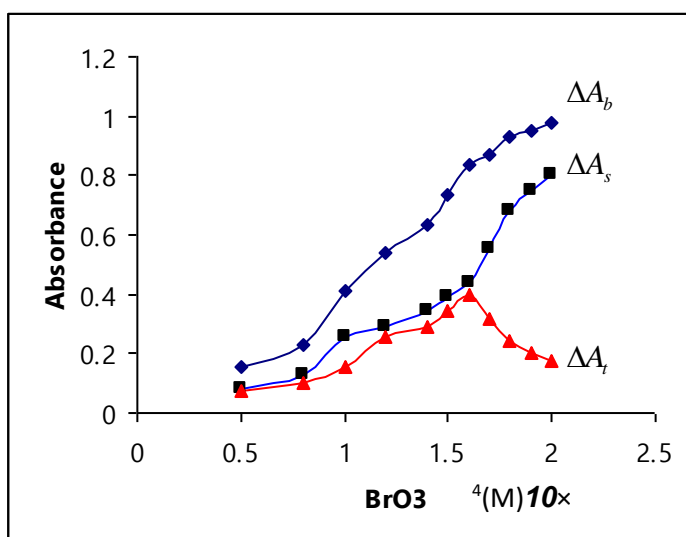
برای تهیه محلول نمونه در یک بالن حجمی  $10$  میلی لیتری،  $1/0$  میلی لیتر متیل رد  $2/77 \times 10^{-4}$  مولار،  $1/0$  میلی لیتر محلول  $1/90$  مولار هیدروکلریک اسید و  $1/0$  میلی لیتر محلول  $20/0$  میکروگرم بر میلی لیتر آسکوربیک اسید ریخته شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، دقیقاً  $2/0$  میلی لیتر از آن به سل دستگاه منتقل گردید و توسط میکروپیت،  $0/20$  میلی لیتر از محلول سدیم برومات با غلظت های متفاوت به آن افزوده شد. با افتادن اولین قطره برومات کرونومتر روشن گردید. محلول داخل سل در مدت  $10$  ثانیه یکنواخت شده و در داخل دستگاه قرار گرفت و تغییرات جذب بر حسب زمان در فاصله زمانی  $10-140$  ثانیه از شروع واکنش و در طول موج  $514$  نانومتر ثبت گردید. برای محلول شاهد نیز به همین نحو عمل شد، با این تفاوت که آسکوربیک اسید به آن افزوده نشد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۳) آورده شده است. نمودار تغییرات سیگنال اندازه گیری شده بر حسب غلظت برومات در شکل (۳-۳) نشان داده شده است.

جدول (۳-۳) تاثیر غلظت برومات بر تغییرات جذب نمونه و شاهد

$10^4 \times \text{غلظت برومات (M)}$	$\Delta \bar{A}_b$	$\Delta \bar{A}_s$	$\Delta \bar{A}_t = \Delta \bar{A}_b - \Delta \bar{A}_s$
0/500	0/156	0/082	0/074
0/800	0/226	0/127	0/099
1/00	0/409	0/255	0/154
1/20	0/540	0/291	0/254
1/40	0/626	0/345	0/291
1/50	0/726	0/391	0/345
1/60	0/835	0/438	0/401
1/70	0/870	0/553	0/317
1/80	0/927	0/684	0/243
1/90	0/949	0/748	0/201
2/00	0/980	0/805	0/175



نتایج نشان میدهد که با افزایش غلظت برومات تا  $1/60 \times 10^{-4}$  مولار سیگنال افزایش و در غلظت های بیشتر سیگنال کاهش یافته است. بنا براین غلظت  $1/60 \times 10^{-4}$  مولار برومات به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.



شکل (۳-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت  $\text{NaBrO}_3$

شرایط: متیل رد  $2/77 \times 10^{-5}$  مولار، هیدروکلریک اسید  $0/190$  مولار، آسکوربیک اسید  $2/0$  میکروگرم بر میلی لیتر، دمای  $20/0^\circ \text{C}$  طول موج  $514$  نانومتر،  $10-14$  ثانیه از شروع واکنش.

### ۳-۱-۹- بررسی غلظت متیل رد

آخرین واکنشگری که مورد بررسی قرار گرفت غلظت متیل رد بود، زیرا فرض شد که کمترین اثر را داشته باشد. برای بهینه سازی غلظت متیل رد در محدوده غلظتی  $3/70 \times 10^{-5}$  -  $1/85 \times 10^{-5}$  به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه محلول نمونه در یک بالن حجمی  $10$  میلی لیتری به ترتیب غلظتهای متفاوتی از متیل رد،  $1/0$  میلی لیتر محلول هیدروکلریک  $1/90$  مولار و  $1/0$  میلی لیتر محلول آسکوربیک اسید  $2/0$  میکروگرم بر میلی لیتر افزوده شده و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از هم زدن و یکنواخت کردن  $2/0$  میلی لیتر از آن به سل دستگاه منتقل گردید و با میکروپیتت،  $0/20$  میلی لیتر محلول سدیم برومات -

$1/60 \times 10^{-3}$  مولار به آن افزوده شد. در مدت  $10$  ثانیه همگن کردن انجام شد و سپس داخل دستگاه قرار گرفت. تغییرات جذب بر حسب فاصله زمانی  $10-140$  ثانیه از شروع واکنش ثبت گردید. برای محلول شاهد نیز به همین نحو عمل شد، با این تفاوت که به آن آسکوربیک اسید افزوده نگردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۴-۳) آورده شده است. نمودار تغییرات سیگنال اندازه گیری شده در شکل (۴-۳) نشان داده شده

است. مشاهده میشود با افزایش غلظت متیل رد تا  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه افزایش یافته و در غلظت های بالاتر از آن رو به کاهش است. لذا غلظت  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار به عنوان غلظت بهینه متیل رد انتخاب شد.

### ۳-۱-۱۰- بررسی اثر دما

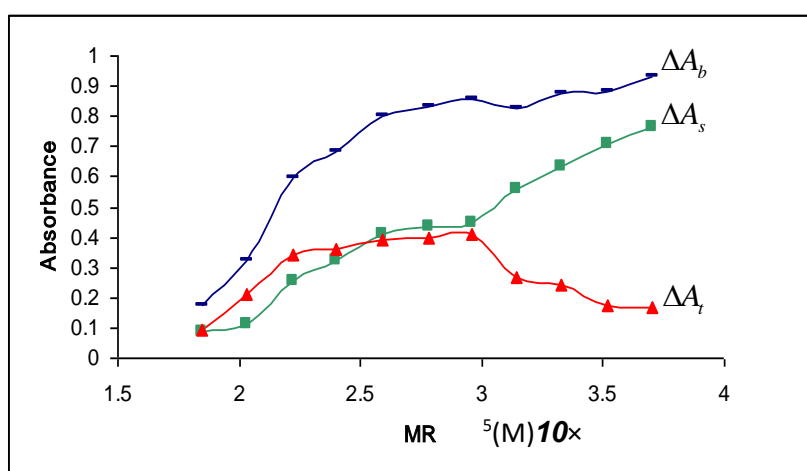
تاثیر دما روی تغییرات جذب شاهد و نمونه و سیگنال کل در فاصله زمانی ۱۰-۱۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش برای محدوده دمایی ۳۰/۰-۵/۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این کار کلیه محلول ها قبل از استفاده به مدت سی دقیقه در حمام آب با دمای مورد نظر قرار گرفتند، تا به تعادل دمایی برسند. برای تهیه محلول نمونه دریک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر متیل رد

$2/96 \times 10^{-4}$  مولار، ۱/۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۱/۹۰ مولار، ۱/۰ میلی لیتر آسکوربیک اسید ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر افزوده شده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل منتقل شده و ۰/۲۰ میلی لیتر برومات  $10^{-3} \times 1/60$  مولار به آن اضافه گردید. با افتادن اولین قطره برومات کرومومتر روشن شده و در مدت ۱۰ ثانیه همگن کردن انجام شد. سپس محلول در داخل دستگاه قرار گرفت. تغییرات جذب بر حسب فاصله زمانی ۱۰-۱۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش ثبت گردید. محلول شاهد نیز به همین ترتیب ساخته شد با این تفاوت که به آن آسکوربیک اسید افزوده نشد. نتایج این بررسی در جدول (۳-۵) آورده شده است. همچنین نمودار تغییرات جذب شاهد و نمونه در شکل (۳-۵) آورده شده است.

جدول (۳-۴) تاثیر غلظت متیل رد بر تغییرات جذب شاهد و نمونه

$10^5 \times$ غلظت متیل رد (M)	$\Delta \bar{A}_b$	$\Delta \bar{A}_s$	$\Delta A_t = \Delta \bar{A}_b - \Delta \bar{A}_s$
۱/۸۵	۰/۱۷۶	۰/۰۸۵	۰/۰۹۱
۲/۰۳	۰/۳۲۴	۰/۱۱۰	۰/۲۱۴
۲/۲۲	۰/۵۹۷	۰/۲۵۶	۰/۳۴۱
۲/۴۵	۰/۶۸۲	۰/۳۲۲	۰/۳۶۰
۲/۵۹	۰/۸۰۲	۰/۴۱۳	۰/۳۸۹
۲/۷۸	۰/۸۳۱	۰/۴۳۲	۰/۳۹۹

۲/۹۶	۰/۸۵۷	۰/۴۴۶	۰/۴۱۱
۳/۱۴	۰/۸۲۹	۰/۵۶۰	۰/۲۶۹
۳/۳۳	۰/۸۷۵	۰/۶۳۱	۰/۲۴۴
۳/۵۲	۰/۸۸۲	۰/۷۰۵	۰/۱۷۷
۳/۷۰	۰/۹۳۴	۰/۷۶۴	۰/۱۷۰



شکل (۳-۴) اثر غلظت متیل رد بر اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

شرایط: هیدروکلریک اسید ۰/۱۹۰ مولار، آسکوربیک اسید ۲/۰ میکرو گرم بر میلی لیتر، سدیم برومات

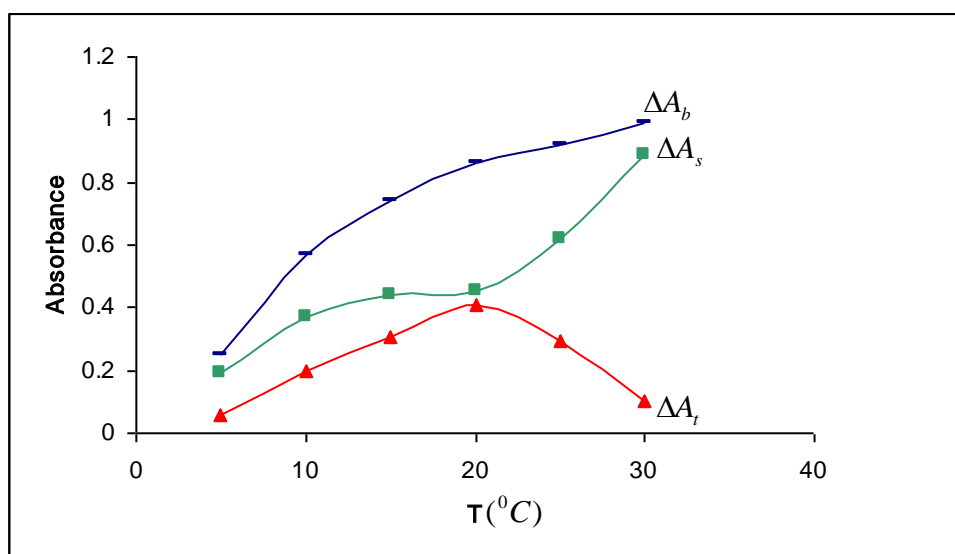
$10^{-4} \times 1/60$  مولار، دما  $20/0^{\circ}C$ ، طول موج ۵۱۴ نانومتر و ۱۰-۱۴۰ ثانیه از شروع واکنش

جدول (۳-۵) تاثیر دما بر اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

$T(^{\circ}C)$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s$	$\Delta A_t$
۵/۰	۰/۲۵۱	۰/۱۹۴	۰/۰۵۷
۱۰/۰	۰/۵۶۶	۰/۳۷۰	۰/۱۹۶
۱۵/۰	۰/۷۴۲	۰/۴۳۸	۰/۳۰۴

۲۰/۰	۰/۸۶۰	۰/۴۵۰	۰/۴۱۰
۲۵/۰	۰/۹۱۶	۰/۶۲۲	۰/۲۹۴
۳۰/۰	۰/۹۸۹	۰/۸۹۰	۰/۰۹۹

همان طور که از داده های جدول مشاهده میشود با افزایش دما تا ۲۰/۰ درجه سانتی گراد سیگنال اندازه گیری افزایش یافته و در دماهای بالاتر از ۲۰/۰ درجه سانتی گراد سیگنال کاهش یافته است. بنابراین دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد به عنوان دمای بهینه انتخاب شد.



شکل (۳-۵) بررسی اثر دما بر اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

شرایط: متیل رد  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار، هیدروکلریک اسید ۰/۱۹۰ مولار، آسکوربیک اسید ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سدیم برومات  $10^{-4}$  مولار، طول موج ۵۱۴ نانومتر ۱۰-۱۴۰ ثانیه از شروع واکنش.

### ۳-۱-۱۱- بررسی اثر قدرت یونی

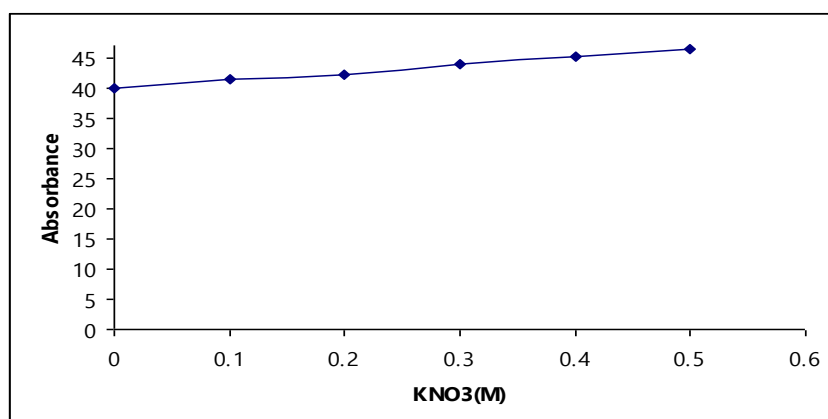
پارامتر دیگری که روی سرعت واکنش های شیمیایی موثر است و در اینجا مورد مطالعه قرار گرفت قدرت یونی بود. برای بررسی اثر قدرت یونی از محلول پتاسیم نیترات استفاده شد.

در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری حجم های متفاوتی از محلول پتاسیم نیترات ۱/۰ مولار ریخته شد. ترتیب افزایش به این صورت بود که ابتدا ۱/۰ میلی لیتر محلول  $2/96 \times 10^{-4}$  مولار متیل رد، ۱/۰ میلی لیتر

محلول ۱/۹۰ مولار هیدروکلریک اسید، ۱/۰ میلی لیتر محلول آسکوربیک اسید ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر و حجم های متفاوتی از محلول پتاسیم نیترات ۱/۰ مولار به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن محلول، ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل دستگاه منتقل شده و توسط میکروپیپت ۰/۲۰ میلی لیتر محلول سدیم برومات  $10^{-3} \times 1/60$  مولار به آن افزوده گردید و با افتادن اولین قطره برومات کرومومتر روشن شد. در مدت ۱۰ ثانیه محتویات سل یکنواخت شده و داخل دستگاه قرار گرفت و میزان زمان بازداری واکنش از روی منحنی تغییرات جذب نمونه بر حسب زمان به روش محاسباتی به دست می آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۶) آورده شده است. نمودار مربوط به آن در شکل (۳-۶) نشان داده شده است.

جدول (۳-۶) تاثیر قدرت یونی بر زمان بازداری واکنش

غلظت پتاسیم نیترات (M)	$T_{ip}(\text{Sec})$
۰/۰۰	۴۲/۰
۰/۱۰	۴۳/۶
۰/۲۰	۴۵/۰
۰/۳۰	۴۷/۰
۰/۴۰	۴۸/۵
۰/۵۰	۴۹/۲



شکل (۳-۶) بررسی اثر قدرت یونی بر سیگنال جذب

شرایط: متیل رد  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار، هیدروکلریک اسید  $0/190$  مولار، برومات  $1/60 \times 10^{-4}$  مولار، دمای  $20/0^{\circ}C$  طول موج  $514$  نانومتر.

### ۳-۱-۱۲-شرایط بهینه

با توجه به نتایج حاصل از بررسی های انجام شده، مناسب ترین شرایط برای تعیین و اندازه گیری آسکوربیک اسید به ترتیب زیر انتخاب شد:

۱- غلظت اسید کلریک برابر  $0/190$  مولار

۲- غلظت سدیم برومات برابر  $1/60 \times 10^{-4}$  مولار

۳- غلظت متیل رد برابر  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار

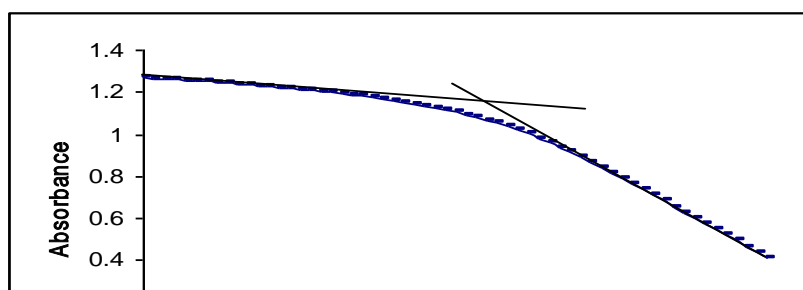
۴- دمای  $20$  درجه سانتی گراد

۵- طول موج  $514$  نانومتر (طول موج ماکزیمم جذب متیل رد)

### ۳-۱-۱۳-رسم منحنی کالیبراسیون

در اکثر روش های تجزیه ای از کالیبراسیون استفاده می شود. تمام روش های تجزیه ای مبتنی بر اندازه گیری یک کمیت فیزیکی است، آنگاه با استفاده از منحنی کالیبراسیون و اطلاعات فیزیکی (جذب-زمان بازداری و شدت جریان...) اطلاعات شیمیایی (غلظت) را به دست می آوریم. در این پروژه سیگنال مورد اندازه گیری زمان بازداری است و کمیتی که از روی منحنی کالیبراسیون به دست می آید غلظت است. برای به دست آوردن زمان بازداری برطبق شکل (۳-۷) دو خط مماس بر منحنی رسم کرده و سپس معادلات آنها را به دست آورده و از تلاقی این معادلات زمان بازداری به دست آمد.

$$y_1 = a_1 + b_1x$$



$$y_2 = a_2 + b_2x$$

$$a_1 - a_2 = b_2x + b_1x$$

$$x = \frac{a_1 - a_2}{b_2 + b_1}$$

شکل (۷-۳) نحوه به دست آوردن زمان بازداری

برای رسم منحنی کالیبراسیون به شکل زیر عمل شد:

در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری حجم های مختلفی از محلول استاندارد آسکوربیک اسید با غلظت های معین اضافه شد. در هر بار پس از افزودن حجم مشخصی از محلول آسکوربیک اسید به بالن سایر واکنشگرها در غلظت های بهینه آنها به ترتیبی که در قسمت ۳-۱-۱۲ بیان شد به محیط اضافه گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل دستگاه منتقل گردید. سپس ۰/۲۰ میلی لیتر از محلول برومات  $1/60 \times 10^{-3}$  مولار به آن اضافه شده و پس از همزدن در مدت ۱۰/۰ ثانیه در داخل دستگاه قرار گرفت و جذب آن در ۵۱۴ نانومتر نسبت به زمان ثبت شد. آنگاه زمان بازداری به ازای غلظت مشخصی از آسکوربیک اسید افزوده شده به دست آمد. منحنی کالیبراسیون از رسم زمان بازداری بر حسب غلظت آسکوربیک اسید به دست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۷-۳) آمده است. نمودار منحنی کالیبراسیون در شکل (۸-۳) آورده شده است. در شرایط بهینه معادله به دست آمده به روش حد اقل مجموع مربعات باقی مانده ها در محدوده غلظتی  $3/8 - 0/08$  میکرو گرم بر میلی لیتر از آسکوربیک اسید به صورت زیر به دست آمد.

$$T_{ip}=20/479C_{ASC}-1/5813 \quad (n=18) \quad r=0/999$$

$T_{ip}$  بر حسب ثانیه و C بر حسب میکرو گرم بر میلی لیتر است که در این ناحیه بین غلظت و زمان بازداری یک رابطه خطی وجود دارد.

### ۳-۱-۱۴- روش پیشنهادی برای اندازه گیری آسکوربیک اسید

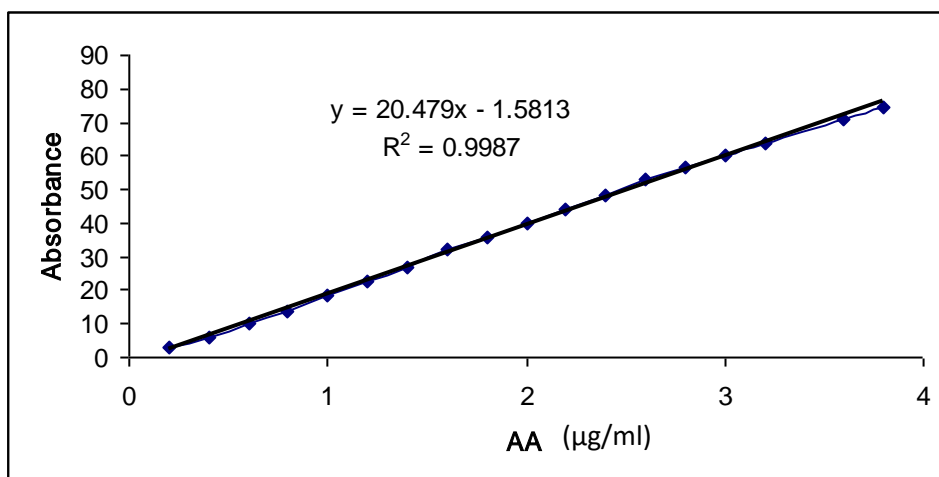
در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری ۱/۰ میلی لیتر متیل رد  $2/96 \times 10^{-4}$  مولار، ۱/۰ میلی لیتر اسید کلریک ۱/۹۰ مولار، نمونه حاوی ۰/۸۰۰-۳۸/۰ میکروگرم بر میلی لیتر اسید آسکوربیک افزوده شده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از هم زدن و یکنواخت کردن ۲/۰ میلی لیتر از آن به سل دستگاه منتقل شده و سپس ۰/۲۰ میلی لیتر محلول برومات سدیم  $1/60 \times 10^{-3}$  مولار به آن اضافه گردید و پس از افتادن اولین قطره برومات کرومتر روشن شد. پس از یکنواخت کردن، محلول در مدت ۱۰/۰ ثانیه سل در داخل دستگاه قرار گرفته و تغییرات جذب بر حسب زمان در طول موج ۵۱۴ نانومتر اندازه گیری و ثبت شد. در نهایت زمان بازداری از روی منحنی تغییرات جذب نمونه بر حسب زمان ارزیابی گردید.

جدول (۳-۷) تغییرات زمان بازداری نمونه بر حسب غلظت آسکوربیک اسید

آسکوربیک اسید بر حسب $\mu\text{g/ml}$	$T_{ip}$ بر حسب ثانیه
۰/۲۰	۲/۷۳
۰/۴۰	۶/۱۳
۰/۶۰	۱۰/۰
۰/۸۰	۱۳/۹۴
۱/۰	۱۸/۴
۱/۲	۲۲/۶
۱/۴	۲۷/۰
۱/۶	۳۲/۰
۱/۸	۳۵/۸
۲/۰	۳۹/۸
۲/۲	۴۴/۱
۲/۴	۴۸/۵



۲/۶	۵۳/۲
۲/۸	۵۶/۴
۳/۰	۶۰/۱
۳/۲	۶۳/۹
۳/۴	۷۱/۰
۳/۸	۷۴/۵



شکل (۳-۸) نمودار منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۳/۸-۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر

شرایط: متیل رد  $2/96 \times 10^{-5}$  مولار، هیدروکلریک اسید ۰/۱۹۰ مولار، سدیم برومات  $1/6 \times 10^{-4}$ ، دمای  $20/0^{\circ}C$ ، طول موج ۵۱۴ نانومتر

۳-۱-۱۵- دقت و صحت روش

برای مطالعه دقت و صحت روش در دامنه خطی منحنی کالیبراسیون چند محلول با غلظت های متفاوت از آسکوربیک اسید در شرایط بهینه انتخاب شدند و در شرایط بهینه بر روی هر نمونه ۱۰ اندازه گیری صورت گرفت. با استفاده از زمانهای بازداری برای هر نمونه و معادله منحنی کالیبراسیون مقدار آسکوربیک اسید برای هر نمونه محاسبه گردید. با استفاده از نتایج حاصله مقدار متوسط غلظت آسکوربیک اسید برای هر نمونه و انحراف استاندارد نسبی نتایج محاسبه گردید. نتایج حاصل در جدول (۳-۸) آورده شده است.

جدول (۳-۸) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت

درصد بازیابی	RSD% N=10	ASC اندازه گیری شده ( $\mu\text{g/ml}$ )	ASC موجود ( $\mu\text{g/ml}$ )
۱۰۰	۲/۵۰	۰/۵۹۰	۰/۶۰۰
۱۰۰/۳	۱/۵۵	۱/۶۱	۱/۶۰
۱۰۰/۰	۰/۹۶	۲/۶۰	۲/۶۰
۹۸/۳	۲/۸	۳/۵۷	۳/۶۰

۳-۱-۱۶- حد تشخیص

حد تشخیص تجربی به عنوان کمترین غلظتی تعریف میشود که نسبت سیگنال به نوفه برابر سه باشد. در اینجا سیگنال، متوسط ۱۰ اندازه گیری تکراری زمان بازداری و نوفه نیز انحراف استاندارد زمانهای بازداری اندازه گیری شده می باشد. حدتشخیص عملی برای این روش ۰/۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

### ۳-۱-۱۷- بررسی مزاحمتها

یکی از مهمترین مراحل در ارائه و بهینه سازی یک روش تجزیه ای بررسی مزاحمت احتمالی گونه های مختلف در اندازه گیری گونه مورد نظر، جهت استفاده از روش فوق در تجزیه نمونه های حقیقی است. با بررسی مزاحمتها میتوان به میزان گزینش پذیری روش پی برد. بدین منظور مزاحمت احتمالی تعداد زیادی از کاتیون ها و آنیونها مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی مزاحمتها زمان بازداری نمونه در غیاب گونه مزاحم در شرایط بهینه ۵ بار به صورت تکراری اندازه گیری شد و انحراف استاندارد سیگنال تجزیه ای (S) محاسبه گردید. سپس هر یون مزاحم به میزان ۱۰۰۰ برابر بیشتر از آسکوربیک اسید (از نظر وزنی) وارد محیط گردید. چنانچه زمان بازداری اندازه گیری شده در این حالت در محدوده  $T_{ip}-3S$  تا  $T_{ip}+3S$  قرار داشت گونه به عنوان مزاحم در نظر گرفته نشد. در غیر این صورت نسبت گونه مزاحم به آسکوربیک اسید به تدریج کم شد تا مزاحمت مشاهده نگردد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۹) آورده شده است.

جدول (۳-۹) بررسی اثر گونه های خارجی و حد مجاز غلظت آنها در محیط واکنش در اندازه گیری آسکوربیک اسید ۲/۰

میکرو گرم بر میلی لیتر

گونه مورد بررسی	حد مجاز گونه مورد بررسی به آسکوربیک اسید
$K^+, NH_4^+, Li^+, Na^+, Sr^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Al^{3+}, Ba^{2+}, Cd^{2+}, Mg^{2+}$ $Mn^{2+}, CN^-, CO_3^{2-}, NO_3^-$	۱۰۰۰
$Pb^{2+}, ClO_3^-, Urea, Citrate, Tartarate, Sacorose,$ Golucose,	۸۰۰
$Co^{2+}, SO_4^{2-}, Benzoice Acid,$	۶۰۰
F <sup>-</sup>	۲۰۰
$Cr^{3+}, Fe^{2+}, PO_4^{3-}, SO_3^{2-}, Zn^{2+}$	۱۰۰

$C_2O_4^{2-}, Ag^+$	۲۵
$I^-, Br^-, SCN^-$	>۱

با توجه به نتایج حاصله معلوم می گردد که بسیاری از یونها زمانی که به میزان ۱۰۰۰ برابر وزنی غلظت آسکوربیک اسید وجود داشته باشند مزاحمتی در تعیین آسکوربیک اسید ایجاد نمی کنند.

### ۳-۱-۱۸- کاربرد روش در تجزیه نمونه های حقیقی

برای بررسی و ارزیابی یک روش بایستی آن روش را در تجزیه نمونه های حقیقی به کار گرفت. آسکوربیک اسید در انواع میوه ها و قرص ها وجود دارد. به همین دلیل اندازه گیری آن توسط روشهای ساده و دقیق مناسب به نظر میرسد. در این پروژه سه نمونه قرص حاوی آسکوربیک اسید تهیه و آنالیز شد. برای تهیه قرص حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم آسکوربیک اسید به طریقه زیر عمل شد. یک قرص دقیقا توزین شده، و در یک بشر حل گردید و سپس به یک بالن حجمی ۱۰۰۰ میلی لیتری منتقل و رقیق شد. ۵/۰ میلی لیتر از این محلول به یک بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری منتقل و سپس به حجم رسانده شد. مجددا ۵/۰ میلی لیتر از این محلول برداشته شده و به یک بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری انتقال یافته و به حجم رسانده شد.

برای تجزیه نمونه قرص مولتی ویتامین حاوی ۶۰/۰ میلی گرم آسکوربیک اسید ابتدا یک قرص دقیقا توزین شد. سپس نمونه به صورت پودر درآمده و در بشر حل و سپس در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری صاف و به حجم رسانده شد. پس از آن ۵/۰ میلی لیتر از این محلول برداشته شده و در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری وارد و به حجم رسانده شد.

برای تهیه قرص حاوی ۲۵۰ میلی گرم آسکوربیک اسید، یک قرص دقیقا توزین شده، و در یک بشر حل گردید و سپس به یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری منتقل شد. ۵/۰ میلی لیتر از این محلول به بالن حجمی ۵۰/۰ میلی لیتری منتقل گردید و بالن توسط آب مقطر به حجم رسانده شد. سپس ۵/۰ میلی لیتر از این محلول به یک بالن حجمی ۵۰/۰ میلی لیتری منتقل شده و آنالیز روی آن انجام شد. برای اندازه گیری مقدار آسکوربیک اسید موجود در نمونه فوق به این نحو عمل شد:

۱/۰ میلی لیتر از هر یک از محلول های تهیه شده از نمونه های فوق طبق روش پیشنهادی به روش افزایش استاندارد مورد آنالیز قرار گرفتند که نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۰) آورده شده است.

جدول (۳-۱۰) نتایج حاصل از تجزیه نمونه های حقیقی

درصد بازیابی	RSD% N=10	مقدار به دست آمده ASC mg/Tab	مقدار واقعی ASC mg/Tab	نمونه <sup>a</sup>
98/7	۳1/8	983±18	995±12	قرص ویتامین ث (mg ۱۰۰۰)
101/2	۱2/8	249±7	246±7	قرص ویتامین ث (mg ۲۵۰)
97/4	۶6/9	57/5±4	59±2	قرص مولتی ویتامین

a) Osveh-Iran-Co

برای به دست آوردن مقدار واقعی آسکوربیک اسید در نمونه های قرص از روش استاندارد کولومتری استفاده گردید.

برای تهیه نمونه های آب، از آب معدنی دماوند به عنوان بافت ثابت نمونه ها استفاده شد. روش کار به این صورت بود که مقادیر مشخصی از آسکوربیک اسید به آب معدنی اضافه گردید تا نمونه های سنتزی به دست آید. این نمونه ها با استفاده از روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفت و مقدار آسکوربیک اسید در آن اندازه گیری شد. هر اندازه گیری ۱۰ بار تکرار شد. نتایج حاصل از اسپیک ۱۳۰ آب معدنی دماوند در جدول (۳-۳) آورده شده است.

جدول (۳-۱۱) نتایج حاصل از روش در نمونه آب معدنی با روش پیشنهادی

درصد بازیابی	RSD% N=10	آسکوربیک اسید حاصله (µg/ml)	آسکوربیک اسید افزوده شده (µg/ml)	نمونه
۱۰۲	۳۰/۰	۱/۰۲	۱/۰۰	آب معدنی دماوند
۹۹/۰	۲/۵۷	۱/۹۸	۲/۰۰	آب معدنی دماوند



۳-۲- اندازه‌گیری همزمان کبالت و مس به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از روش کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی (PLS)

### ۳-۲-۱ مواد شیمیایی مورد نیاز

کلیه مواد مورد استفاده در این پروژه موادی با خلوص تجزیه‌ای بوده که این مواد همراه با فرمول شیمیایی و نام شرکت سازنده آنها در جدول (۳-۱۲) آورده شده است.

جدول (۳-۱۲) مواد شیمیایی مورد نیاز

شرکت	فرمول	ماده
Merck	$C_{11}H_8N_3NaO_2 \cdot H_2O$	۴-۲- پیریدیل آزو) رزورسینول منوسدیم منو هیدرات <sup>۱۳</sup>
Merck	$HNO_3$	اسید نیتریک
Merck	$NH_3$	آمونیاک
Merck	$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$	مس نترات سه آبه
Merck	$CoN_2O_6 \cdot 6H_2O$	کبالت نترات شش آبه

### ۳-۲-۲- تهیه محلولهای مادر:

محلول  $2/35 \times 10^{-3}$  مولار ۴-۲- پیریدیل آزو) رزورسینول از حل کردن ۰/۱۵۰۰ گرم از این ماده جامد در یک بالن ۲۵۰ میلی لیتری و سپس رقیق کردن آن توسط آب مقطر تهیه شد.

محلول ۰/۱۰ مولار نیتریک اسید از حل کردن ۱۰/۰ میلی لیتر از اسید نیتریک ۱/۰ مولار در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد. برای تهیه محلول ۱/۰ مولار اسید نیتریک ۶/۹۲ میلی لیتر محلول اسید نیتریک

غلیظ در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. این محلول در مقابل سدیم کربنات استاندارد شد.

محلول ۰/۰۱۰ مولار آمونیاک از رقیق سازی دو مرحله‌ای آمونیاک ۱/۰۰ مولار در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری به دست آمد. برای تهیه محلول ۱/۰۰ مولار آمونیاک ۳/۷۵ میلی‌لیتر از آمونیاک غلیظ در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری رقیق گردید. محلول آمونیاک در مقابل محلول استاندارد هیدروکلریک اسید استاندارد گردید.

محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مس (II) از حل کردن ۰/۳۸۰۲ گرم نیترات مس (II) سه آبه در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری و سپس رقیق کردن آن تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد.

محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت (II) از حل کردن ۰/۴۹۵۸ گرم نیترات کبالت (II) شش آبه در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری و سپس رقیق کردن آن تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد. سایر محلول‌های استاندارد مس و کبالت روزانه از رقیق کردن این محلول‌های فوق تهیه شدند.

به منظور بررسی مزاحمت سایر یونها محلول‌های مورد نیاز از حل کردن مقادیر مناسب از نمک‌های نیترات، سولفات، سدیم و پتاسیم در آب، اسید و سود تهیه شدند.

### ۳-۲-۳- دستگاه‌های مورد استفاده:

برای ثبت طیف‌های جذبی و تمام جذب‌های اندازه‌گیری شده از یک اسپکتروفتومتر مرئی- ماوراء بنفش Raylight مدل UV-1800 با یک جفت سل شیشه ای ۱/۰ سانتی‌متر استفاده گردید. برای انتقال داده‌ها از اسپکتروفتومتر به کامپیوتر از یک نرم افزار مربوطه استفاده شد.

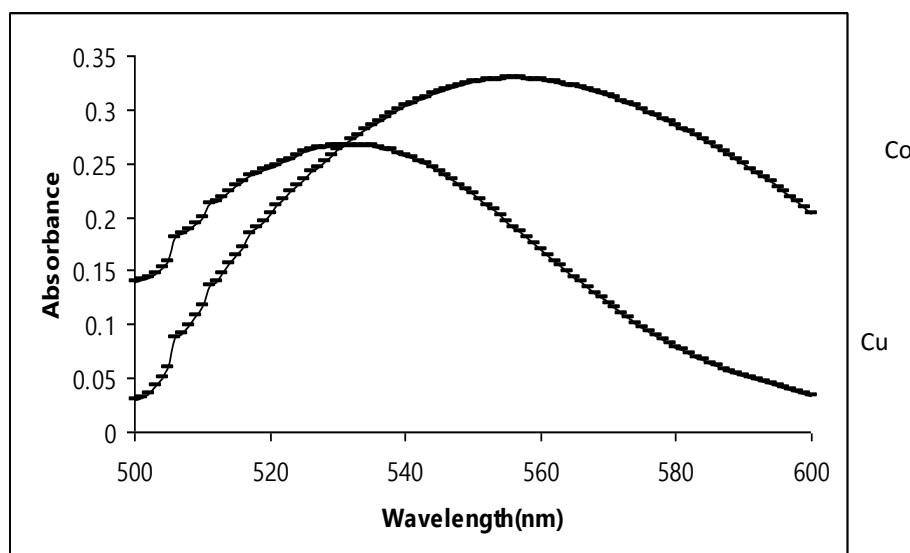
### ۳-۲-۴- رسم طیف جذبی

برای ثبت طیف‌های جذبی محلول کبالت و مس به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه محلول کبالت، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول  $10^{-3} \times 2/35$  مولار PAR، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۱۰ مولار آمونیاک، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت و ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۱۰ مولار اسید نیتریک به یک بالن حجمی ۱۰ منتقل شدند. سپس با آب مقطر رقیق شده و پس از یکنواخت کردن مقدار لازم از آن به سل دستگاه منتقل شد. برای تهیه محلول شاهد نیز به همین نحو عمل شد، با این تفاوت که به آن کبالت اضافه نگردید. سپس طیف جذبی کبالت نسبت به محلول شاهد ثبت گردید.



برای محلول مس نیز به ترتیب بالا عمل شد با این تفاوت که بجای ۱/۰ میلی لیتر محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر کبالت، ۱/۰ میلی لیتر محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر مس افزوده شد. طیف محلول مس نیز در مقابل شاهد ثبت گردید. طیف‌های حاصله در شکل (۳-۹) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، طول موج ماکزیمم برای کمپلکس کبالت ۵۵۵ نانومتر و برای کمپلکس مس در ۵۳۲ نانومتر است.



شکل (۳-۹) طیف جذبی

شرایط: ۴- (۲-پیریدیل آزو) رزورسینول  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک ۰/۰۰۱۰ مولار، اسید نیتریک ۰/۰۱۰ مولار، کبالت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر و مس ۱/۰ میلی گرم بر لیتر.

### ۳-۲-۵- روش کاردر بهینه سازی پارامترها:

به منظور دستیابی به بهترین حد تشخیص و حسایت نیاز بود که پارامترهای موثر در واکنش بهینه شوند. برای بهینه کردن این پارامترها، محلول نمونه و شاهد به ترتیب زیر تهیه شد:

برای تهیه محلول نمونه کبالت در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری به ترتیب حجم‌های مشخصی از PAR، ۱/۰ میلی لیتر آمونیاک ۰/۰۱۰ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر کبالت و حجم‌های مشخصی از محلول ۰/۱۰ مولار اسید نیتریک اضافه شده و پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شد.

برای تهیه محلول نمونه مس نیز به طریق بالا عمل شد با این تفاوت که بجای کبالت، ۱/۰ میلی لیتر محلول ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر مس به بالن ۱۰ منتقل شد.

برای تهیه محلول شاهد نیز تمامی مراحل بالا تکرار گردید با این تفاوت که به محلول شاهد محلولهای مس یا کبالت افزوده نگردید. سپس محلول نمونه در داخل دستگاه قرار گرفته و جذب آنها در طول موج ماکزیمم نسبت به محلول شاهد ثبت گردید.

### ۳-۲-۶- بررسی پارامترها و بهینه کردن شرایط واکنش:

پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- غلظت اسید نیتریک

۲- غلظت ۴- (۲) - پیریدیل آزو) رزورسینول.

۳- قدرت یونی

از بین روشهای مختلف در بهینه کردن پارامترها روش یک متغیر در یک زمان انتخاب شد. به این دلیل که پارامترهای موثر در واکنش تاثیری روی یکدیگر نداشتند. در این روش تمامی پارامترها ثابت در نظر گرفته شده و فقط پارامتری که بایستی بهینه شود تغییر داده شد. برای بهینه کردن پارامترهای غلظتی نیز، حجمهای مختلفی از محلول گونه مورد نظر با غلظت ثابت و مشخص به مخلوط واکنش افزوده شد، و جهت ثابت ماندن حجم کلی محلول میزان آب مقطر به تناسب تغییر داده شد. برای اطمینان از صحت اندازه گیریها، هر اندازه-گیری حداقل دو بار تکرار شد.

### ۳-۲-۷- بررسی اثر غلظت اسید نیتریک

برای بررسی اثر غلظت اسید نیتریک در طول موج ماکزیمم کمپلکس های مس و کبالت در محدوده غلظتی ۰/۰۱۶-۰/۰ مولار به ترتیب زیر عمل شد:

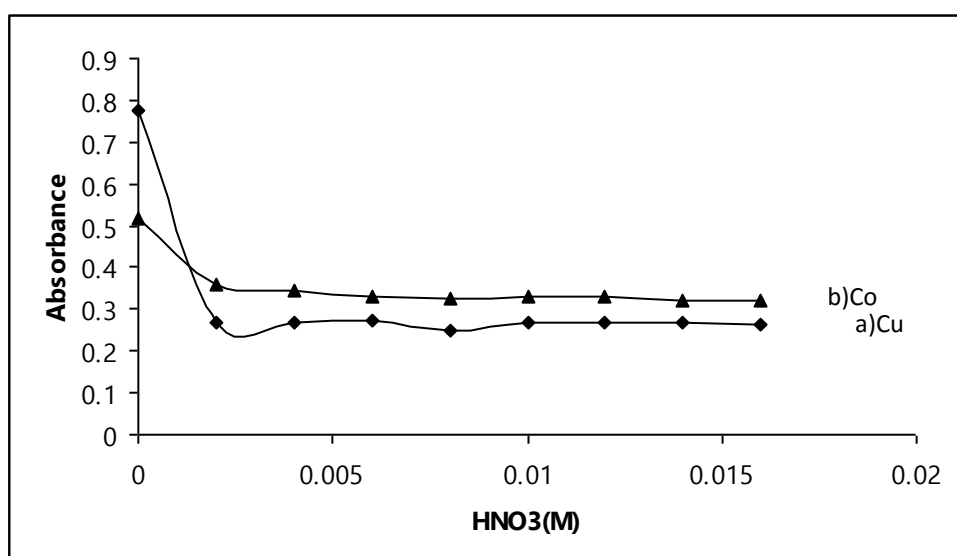
برای تهیه محلول نمونه کبالت در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری، ۱/۰ میلی لیتر  $PAR \times 10^{-3}$  ۲/۳۵ مولار، ۱/۰ میلی لیتر آمونیاک ۰/۰۱۰ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر کبالت و حجمهای مشخصی از محلول اسید نیتریک ۰/۱۰ مولار افزوده شده و پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، مقدار لازم از آن به سل دستگاه منتقل گردید.

محلول شاهد نیز به همان ترتیب ساخته می شد با این تفاوت که به محلول شاهد کبالت اضافه نگردید پس از آن محلول شاهد در داخل دستگاه قرار گرفته و جذب نمونه نسبت به شاهد در طول موج ماکزیمم کبالت ۵۵۵ نانومتر اندازه گیری شد. برای محلول مس نیز به همین طریق عمل شد، با این تفاوت که به جای محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر میلی لیتر کبالت از محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر میلی لیتر مس استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۳) و شکل (۳-۱۰) آورده شده است.

جدول (۳-۱۳) تاثیر غلظت اسید نیتریک روی سیگنال مس و کبالت

غلظت نیتریک اسید (M)	جذب کمپلکس	
	مس	کبالت
۰/۰۰	۰/۷۷۷	۰/۵۱۵
۰/۰۰۲	۰/۲۶۸	۰/۳۵۷
۰/۰۰۴	۰/۲۶۸	۰/۳۴۴
۰/۰۰۶	۰/۲۷۱	۰/۳۳۲
۰/۰۰۸	۰/۲۵۱	۰/۳۲۴
۰/۰۱۰	۰/۲۶۶	۰/۳۲۸
۰/۰۱۲	۰/۲۶۶	۰/۳۳۰
۰/۰۱۴	۰/۲۶۶	۰/۳۲۱
۰/۰۱۶	۰/۲۶۵	۰/۳۲۰

همان گونه که از داده های جدول مشاهده میشود در ابتدا جذب کاهش یافته و از غلظت ۰/۰۰۸۰ مولار تا ۰/۰۱۶ مولار نیتریک اسید، جذب کمپلکس های مس و کبالت ثابت باقی مانده است. بنابراین غلظت ۰/۰۱۰ مولار اسید نیتریک، به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.



شکل (۳-۱۰) بررسی اثر غلظت نیتریک اسید

شرایط: PAR  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک ۰/۰۱۰ مولار، (a) مس ۱/۰ میلی گرم بر لیتر (b) کبالت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر

۳-۲-۸- بررسی اثر غلظت ۴- (۲- پیریدیل آزو) رزورسینول (PAR):

برای بررسی اثر غلظت PAR روی تغییرات جذب نمونه در محدوده غلظت  $10^{-5}$  تا  $10^{-4}$  مولار  $4/23 \times 10^{-4}$  مولار به ترتیب زیر عمل شد.

برای تهیه محلول نمونه کبالت ابتدا در یک بالن حجمی  $10/0$  میلی لیتری به ترتیب حجم های مختلفی از محلول PAR،  $1/0$  میلی لیتر آمونیاک  $0/010$  مولار،  $1/0$  میلی لیتر محلول  $10/0$  میکروگرم بر میلی لیتر کبالت،  $1/0$  میلی لیتر محلول  $0/10$  مولار اسید نیتریک افزوده شده و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شد. برای تهیه محلول نمونه مس نیز به طریق فوق عمل شد، با این تفاوت که به جای محلول کبالت از محلول مس با غلظت  $10/0$  میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد.

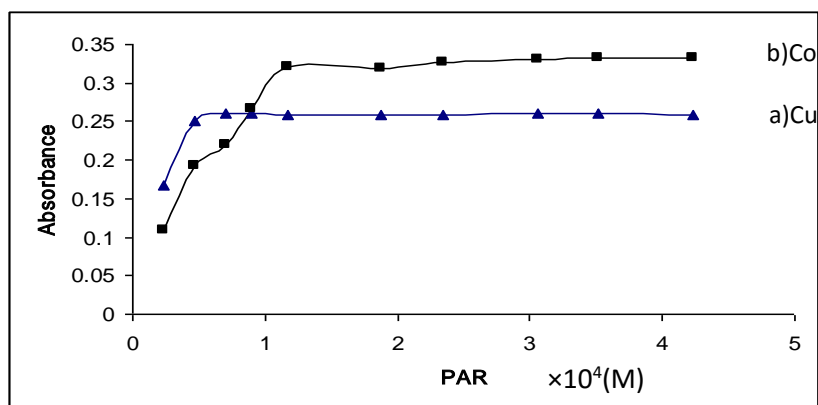
برای تهیه محلول شاهد نیز به مراحل بالا تکرار گردید. با این تفاوت که کبالت و مس به آن افزوده نشد. سپس محلول شاهد و نمونه در داخل دستگاه قرار گرفته و جذب محلول نمونه نسبت به شاهد در طول موج ماکزیمم کمپلکس های مس و کبالت، اندازه گیری شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۴) آورده شده است. نمودار تغییرات جذب مس و کبالت بر حسب غلظت PAR در شکل (۳-۱۱) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۴) تاثیر غلظت PAR روی جذب مس و کبالت

$10^4 \times \text{غلظت PAR (M)}$	جذب کمپلکس	
	مس	کبالت
۰/۲۳۵	۰/۱۶۸	۰/۱۰۸
۰/۴۷۰	۰/۲۵۱	۰/۱۹۲
۰/۷۰۵	۰/۲۶۰	۰/۲۲۰
۰/۹۰۴	۰/۲۶۰	۰/۲۶۶
۱/۱۷۰	۰/۲۵۹	۰/۳۱۴
۱/۸۸۰	۰/۲۵۹	۰/۳۱۸

۲/۳۵	۰/۲۵۹	۰/۳۲۶
۳/۰۶	۰/۲۶۰	۰/۳۳۱
۳/۵۲	۰/۲۶۰	۰/۳۳۲
۴/۲۳	۰/۲۵۹	۰/۳۳۳

از داده‌های حاصله مشاهده میشود که برای کمپلکس مس مقدار جذب تا غلظت  $7/05 \times 10^{-5}$  مولار افزایش یافته و سپس ثابت باقی می ماند. برای کمپلکس کبالت نیز جذب تا غلظت  $1/17 \times 10^{-4}$  جذب کمپلکس کبالت رو به افزایش است و سپس ثابت باقی می ماند. بنا براین غلظت  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار به عنوان غلظت بهینه PAR انتخاب شد.



شکل (۳-۱۱) نمودار تغییرات جذب مس بر حسب غلظت PAR

شرایط: آمونیاک  $0/0010$  مولار، مس  $1/0$  میلی گرم بر لیتر، نیتریک اسید  $0/010$  مولار،

(a) مس (II)  $1/0$  میلی گرم بر لیتر، (b) کبالت (II)  $1/0$  میلی گرم بر لیتر

### ۹-۲-۳- بررسی اثر قدرت یونی

عامل دیگری که در واکنش موثر است و مورد بررسی قرار گرفت اثر قدرت یونی بود. برای بررسی اثر قدرت یونی بر روی سیگنال مس و کبالت از نمک پتاسیم سولفات استفاده شد. برای تهیه محلول مس به طریق زیر عمل شد:

در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری ۱/۰ میلی لیتر محلول PAR  $10^{-3} \times 2/35$  مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول آمونیاک ۰/۰۱۰ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول مس ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، حجم های مختلفی از محلول پتاسیم سولفات ۱/۰ مولار و ۱/۰ میلی لیتر محلول ۰/۱۰ مولار اسید نیتریک اضافه شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، مقداری از آن به سل دستگاه منتقل گردید. برای تهیه محلول کبالت نیز به همین طریق عمل شد، با این تفاوت که به جای محلول مس از محلول کبالت استفاده شد.

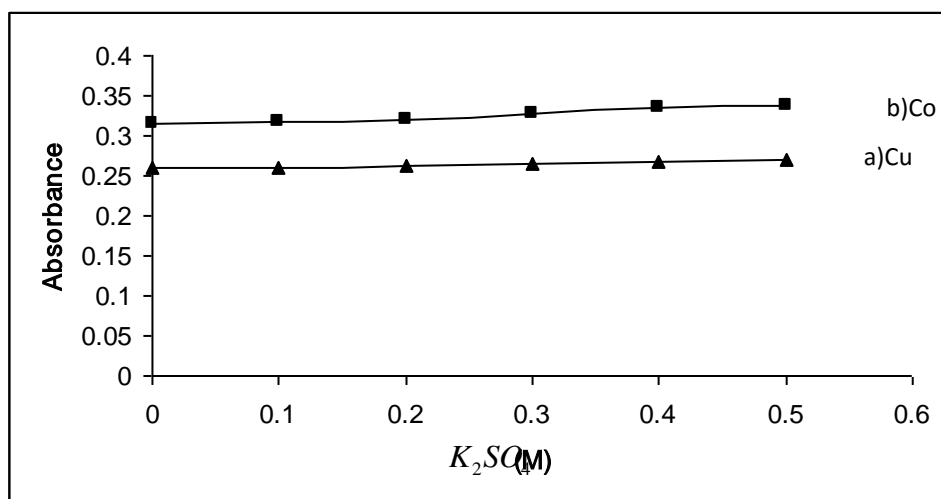
برای تهیه محلول شاهد نیز مراحل فوق تکرار گردید، با این تفاوت که آن محلول مس و کبالت افزوده نشد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۱۵-۳) آمده است. نمودار مورد نظر در شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است.

جدول (۱۵-۳) تاثیر قدرت یونی بر جذب

غلظت پتاسیم سولفات (M)	جذب کمپلکس	
	مس	کبالت
۰/۰	۰/۲۵۹	۰/۳۱۶
۰/۱۰	۰/۲۶۱	۰/۳۱۸
۰/۲۰	۰/۲۶۳	۰/۳۲۰
۰/۳۰	۰/۲۶۵	۰/۳۲۷

۰/۴۰	۰/۲۶۷	۰/۳۳۵
۰/۵۰	۰/۲۶۹	۰/۳۳۷

همان طور که از داده های جدول مشاهده میشود با افزایش قدرت یونی تا ۰/۵۰ مولار پتاسیم سولفات، جذب کمپلکس برای نمونه های مس و کبالت به مقدار کمی افزایش داشته که قابل ملاحظه نمی باشد.



شکل (۳-۱۲) بررسی اثر قدرت یونی بر روی جذب

شرایط: PAR(a):  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک ۰/۰۰۱۰ مولار، مس ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، نیتریک اسید ۰/۰۱۰ مولار و طول موج ۵۳۲ نانومتر.

PAR(b):  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک ۰/۰۰۱۰ مولار، کبالت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، نیتریک اسید ۰/۰۱۰ مولار و طول موج ۵۵۵ نانومتر.

### ۳-۲-۱۰- شرایط بهینه

با توجه به نتایج تجربی حاصل در بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر جذب کمپلکسهای یونهای مس و کبالت با PAR در طول موجهای ماکزیمم مربوطه شرایط بهینه زیر انتخاب و در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

۱- اسید نیتریک ۰/۰۱۰ مولار

۲- غلظت PAR  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار



۳- آمونیاک ۰/۰۰۱۰ مولار

### ۳-۲-۱۱- رسم منحنی کالیبراسیون (کالیبراسیون یک متغیره)

در روشی که در این پروژه ارائه شده است سیگنال مورد اندازه‌گیری همان جذب محلول است و کمیت مورد نظر که از روی منحنی کالیبراسیون به دست می‌آید غلظت است.

### ۳-۲-۱۱-۱- رسم منحنی کالیبراسیون مس

در یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول PAR  $10^{-4} \times 2/35$  مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۱۰ مولار آمونیاک، مقادیر مختلفی از محلول مس و ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱۰ مولار اسید نیتریک اضافه شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول مقدار لازم از آن به سل دستگاه منتقل شد. محلول شاهد نیز به همین ترتیب ساخته شد با این تفاوت که به آن مس اضافه نشد. سپس جذب محلول نمونه نسبت به شاهد در طول موج ماکزیمم مس ۵۳۲ نانومتر ثبت گردید. منحنی کالیبراسیون از رسم جذب بر حسب غلظت مس به دست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۶) آورده شده است. نمودار منحنی کالیبراسیون در شکل (۳-۱۳) نشان داده شده است. با توجه به نتایج مشخص می‌شود که در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون مس در ناحیه (۶/۴-۰/۰۵۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر خطی است، که در این ناحیه معادله منحنی کالیبراسیون به صورت زیر است:

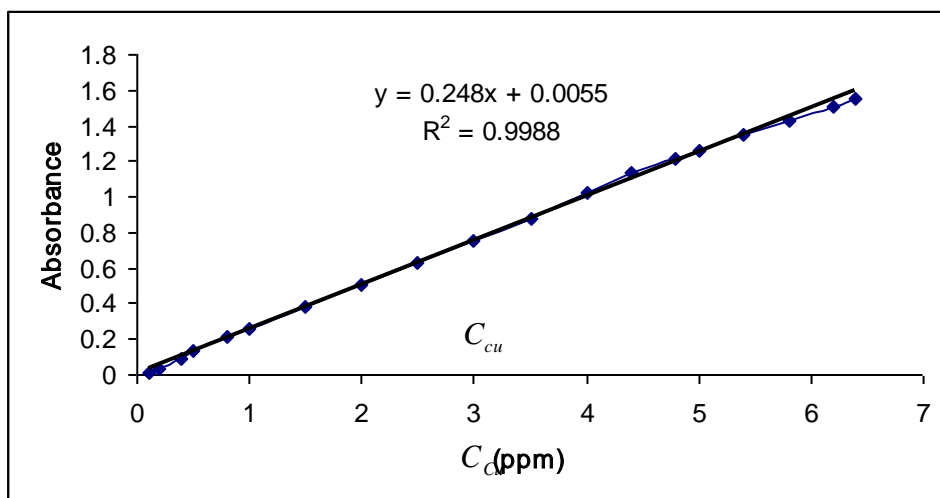
$$A_{Cu} = 0.2480 C_{Cu} + 0.0055 \quad (n=19) \quad r = 0.999$$

که ضریب همبستگی آن  $r = 0.999$  بدست آمده است در این رابطه  $C_{Cu}$  بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

جدول (۳-۱۶) تغییرات جذب بر حسب غلظت مس در دامنه ۶/۴-۰/۰۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

غلظت مس ( $\mu\text{g/ml}$ )	جذب (A)
۰/۱۰	۰/۰۱۳

•/٢•	•/•٣٨
•/٤•	•/•٨٦
•/٥•	/•١٣•
•/٨•	•/٢•٩
١/•	•/٢٥٥
١/٥	•/٣٨٣
٢/•	•/٥•٦
٢/٥	•/٦٣٥
٣/•	•/٧٥٣
٣/٥	•/٨٨٣
٤/•	١/•٢٢
٤/٤	١/١٣١
٤/٨	١/٢١١
٥/•	١/٢٦٢
٥/٤	١/٣٥٥
٥/٨	١/٤٢٩
٦/٢	١/٥١•
٦/٤	١/٥٥٦



شکل (۳-۱۳) منحنی کالیبراسیون مس

شرایط: PAR:  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک  $0/010$  مولار، نیتریک اسید  $0/010$  مولار و طول موج  $532$  نانومتر.

### ۳-۱۱-۲-۳- رسم منحنی کالیبراسیون کبالت:

برای رسم منحنی کالیبراسیون کبالت نیز به ترتیب زیر عمل شد:

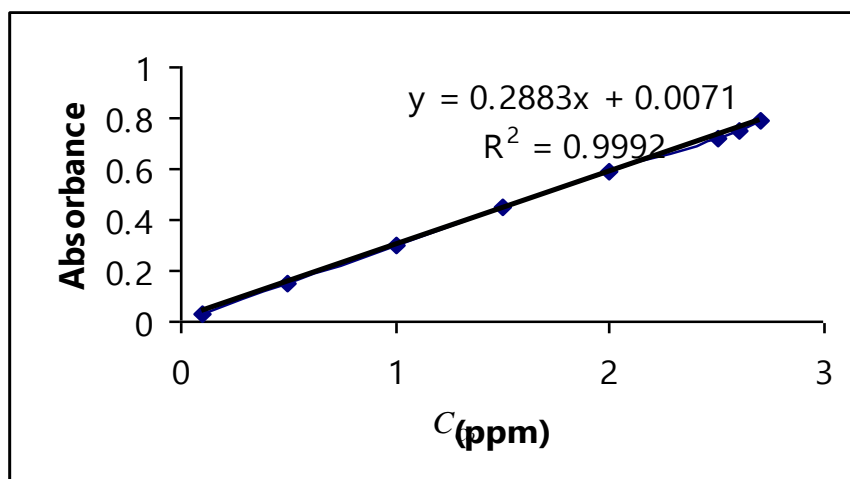
ابتدا در یک بالن حجمی  $10/0$  میلی لیتری به ترتیب  $1/0$  میلی لیتر PAR  $2/35 \times 10^{-3}$  مولار،  $1/0$  میلی لیتر آمونیاک  $0/010$  مولار، مقادیر مختلفی از محلول کبالت و  $1/0$  میلی لیتر محلول اسید نیتریک  $0/10$  مولار اضافه شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شد. محلول شاهد نیز به همین ترتیب ساخته شد. با این تفاوت که به آن محلول کبالت افزوده نشد. سپس تغییرات جذب نمونه کبالت نسبت به شاهد در طول موج  $555$  نانومتر ثبت گردید. نتایج حاصله در جدول (۳-۱۷) آمده است. نمودار تغییرات جذب بر حسب غلظت کبالت نیز در شکل (۳-۱۴) آورده شده است. همان طور که از نتایج مشاهده می شود منحنی کالیبراسیون کبالت در ناحیه  $0/05-2/7$  میکروگرم بر میلی لیتر خطی است که در این ناحیه معادله منحنی کالیبراسیون به صورت:

$$A_{Co} = 0/2883 C_{Co} + 0/0071 \quad (n=8) \quad r = 0/999$$

با ضریب همبستگی  $r = 0.999$  است. در این رابطه  $C_{Co}$  بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است.

جدول (۳-۱۷) تغییرات جذب بر حسب غلظت کبات در دامنه ۰/۰۵۰-۲/۷ میکروگرم بر میلی لیتر

غلظت کبات ( $\mu\text{g/ml}$ )	جذب (A)
۰/۱۰	۰/۰۲۷
۰/۵۰	۰/۱۵۰
۱/۰	۰/۳۰۱
۱/۵	۰/۴۵۰
۲/۰	۰/۵۹۳
۲/۵	۰/۷۱۸
۲/۶	۰/۷۴۹
۲/۷	۰/۷۸۸



شکل (۳-۱۴) نمودار منحنی کالیبراسیون کبالت

شرایط: PAR  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک  $0/010$  مولار، نیتریک اسید  $0/010$  مولار، طول موج ۵۵۵ نانومتر.

### ۳-۱۱-۲-۳- رسم منحنی کالیبراسیون مس در حضور کبالت

در اکثر روشهایی که دو گونه و یا بیشتر به صورت همزمان اندازه گیری می شوند به دست آوردن دامنه خطی هر یک از گونه ها در حضور گونه دیگر نیز پیشنهاد می شود. برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون مس در حضور کبالت بالاترین غلظت کبالت ( $2/7 \mu\text{g/ml}$ ) انتخاب شده و در حضور این غلظت از کبالت مجدداً منحنی کالیبراسیون برای مس در طول موج ماکزیمم مس (۵۳۲) نانومتر رسم گردید.

در یک بالن حجمی  $10/0$  میلی لیتری به ترتیب  $1/0$  میلی لیتر از محلول PAR  $2/35 \times 10^{-3}$  مولار،  $1/0$  میلی لیتر آمونیاک  $0/010$  مولار و حجم های مختلفی از محلول استاندارد مس،  $1/0$  میلی لیتر محلول  $27$  میکروگرم بر میلی لیتر کبالت و  $1/0$  میلی لیتر محلول اسید نیتریک  $0/10$  مولار ریخته شد. سپس به حجم رسانده شده و پس از یکنواخت کردن مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شد. برای تهیه محلول شاهد نیز به همین نحو عمل شد. با این تفاوت که به آن محلول مس و کبالت افزوده نشد. سپس جذب محلول نمونه

نسبت به شاهد در طول موج ماکزیمم مس، (۵۳۲ نانومتر) ثبت گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۱۸-۳) آمده است. نمودار حاصل از نتایج در شکل (۳-۱۵) نشان داده شده است. همان طور که از شکل (۳-۱۵) مشاهده می شود ناحیه خطی مس در حضور کبالت ۱/۷۰-۰/۰۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر است و معادله منحنی کالیبراسیون به صورت

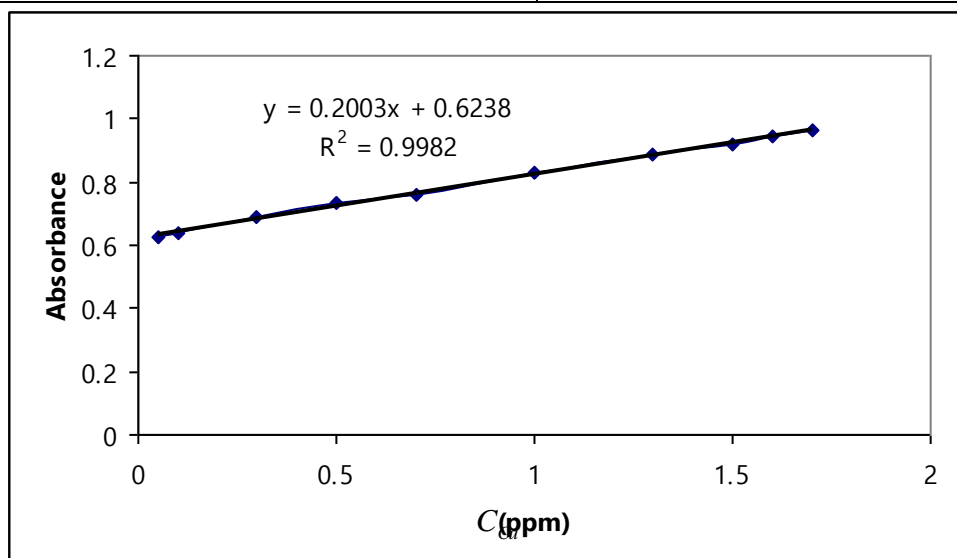
$$A_{Cu(co)} = 0.2003 C_{Cu(co)} + 0.6238 \quad (n=10) \quad r=0.999$$

با ضریب همبستگی  $r=0.999$  است. در اینجا بالاترین غلظتی از مس که در دامنه خطی قرار دارد برابر ۱/۷ میکروگرم بر میلی لیتر است. بنابراین غلظت ۱/۷ میکروگرم بر میلی لیتر به عنوان بالاترین غلظت مس انتخاب گردید.

جدول (۳-۱۸) تغییرات جذب بر حسب غلظت مس در حضور کبالت (۲/۷ μg/ml)

غلظت مس (μg/ml)	جذب مس در حضور کبالت
۰/۰۵۰	۰/۶۲۸
۰/۱۰	۰/۶۳۸
۰/۳۰	۰/۶۹۰
۰/۵۰	۰/۷۳۳
۰/۷۰	۰/۷۶۰

۱/۰	۰/۸۳۰
۱/۳	۰/۸۸۵
۱/۵	۰/۹۲۱
۱/۶	۰/۹۴۳
۱/۷	۰/۹۶۳



شکل (۳-۱۵) نمودار منحنی کالیبراسیون مس در حضور کبالت

شرایط: PAR:  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک  $0/0010$  مولار، کبالت  $2/7$  میلی گرم بر لیتر، نیتریک اسید  $0/010$  مولار، طول موج  $532$  نانومتر.

### ۳-۲-۱۱-۴- رسم منحنی کالیبراسیون کبالت در حضور مس

برای رسم منحنی کالیبراسیون کبالت در حضور مس، غلظت مس در حد بالای آن، یعنی  $1/7$  میکروگرم بر میلی لیتر ثابت نگه داشته شد. برای تهیه محلول نمونه به طریق زیر عمل شد.

در یک بالن حجمی  $10/0$  میلی لیتری به ترتیب  $1/0$  میلی لیتر محلول  $2/35 \times 10^{-3}$  مولار PAR،  $1/0$  میلی لیتر محلول آمونیاک  $0/010$  مولار، حجم‌های مختلفی از محلول استاندارد کبالت،  $1/0$  میلی لیتر محلول

۱۷ میکروگرم بر میلی لیتر مس و ۱/۰ میلی لیتر محلول اسید نیتریک ۰/۱۰ مولار وارد شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شد.

برای تهیه محلول شاهد نیز به طریقه فوق عمل شد با این تفاوت که به آن کبالت و مس افزوده نشد. سپس جذب محلول نمونه نسبت به شاهد در طول موج ماکزیمم کبالت (۵۵۵ نانومتر) ثبت گردید. نتایج حاصله در جدول (۱۹-۳) آورده شده است. نمودار مربوطه نیز در شکل (۱۶-۳) نشان داده شده است.

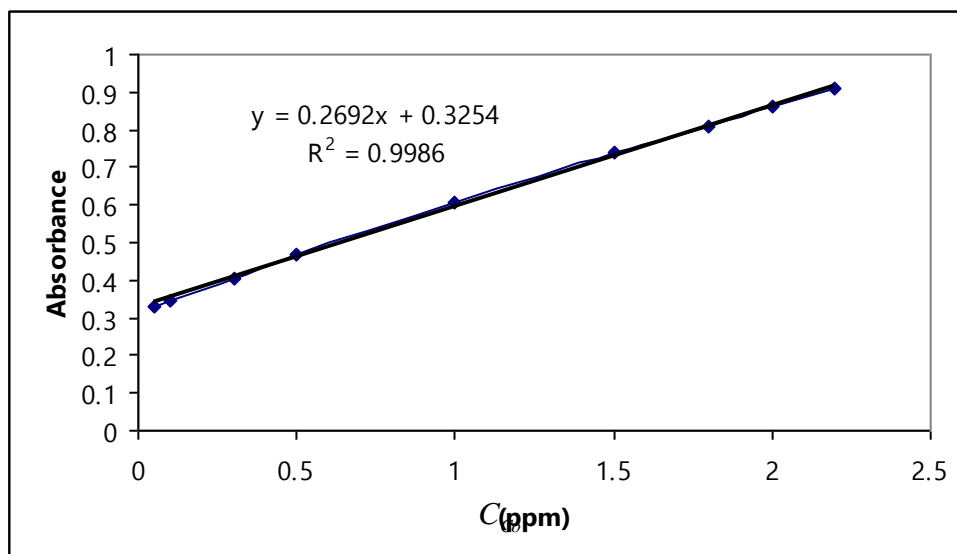
جدول (۱۹-۳) تغییرات جذب بر حسب غلظت کبالت در حضور (۱/۷ μg/ml) مس

غلظت کبالت (μg/ml)	جذب کبالت در حضور مس
۰/۰۵	۰/۳۳۰
۰/۱۰	۰/۳۴۷
۰/۳۰	۰/۴۰۳
۰/۵۰	۰/۴۷۰
۱/۰	۰/۶۰۴
۱/۵	۰/۷۴۱
۱/۸	۰/۸۱۰
۲/۰	۰/۸۶۰
۲/۲	۰/۹۰۷

همانطور که نتایج نشان میدهد دامنه خطی کبالت در حضور مس ۲/۲-۰/۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر و معادله منحنی کالیبراسیون به صورت زیر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۹ است.

$$A_{Co(cu)} = 0.2692 C_{Co(cu)} + 0.3254 \quad (n=10) \quad r = 0.999$$





شکل (۳-۱۶) نمودار کالیبراسیون کبالت در حضور مس

شرایط: PAR:  $2/35 \times 10^{-4}$  مولار، آمونیاک  $0/0010$  مولار،  $1/7$  میلی گرم بر لیتر مس، نیتریک اسید  $0/010$  مولار، طول موج  $555$  نانومتر.

### ۳-۲-۱۲- کالیبراسیون چند متغیره:

#### ۳-۲-۱۲-۱ طراحی آزمایش

برای کالیبراسیون چند متغیره و اندازه گیری همزمان مس و کبالت، روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS 1) به کار گرفته شده است. برای انجام رگرسیون حداقل مربعات جزئی دو سری محلولهای استاندارد به صورت مخلوط دوتایی مس و کبالت تهیه شدند. سری اول از این محلولها، سری کالیبراسیون یا سری آموزش است که برای مدلسازی به روش حداقل مربعات جزئی به کار گرفته شد. سری دوم محلولها که سری پیش بینی یا سری ارزیابی است، برای ارزیابی توانایی مدل ساخته شده در پیش بینی غلظت به کار گرفته شد. برای سری کالیبراسیون، ابتدا  $24$  محلول به صورت مخلوط دوتایی از کاتیونهای مس و کبالت تهیه شد، به گونه ای که غلظت هر کاتیون بر اساس جدول (۳-۱۸) در دامنه غلظتی  $1/7-0/050$  میلی گرم بر لیتر برای مس و بر اساس جدول (۳-۱۹) در دامنه غلظتی  $2/2-0/050$  میلی گرم بر میلی لیتر برای کبالت قرار داشت. برای سری پیش بینی تعداد  $8$  محلول به صورت مخلوط دوتایی از کاتیونهای مورد نظر به صورت کاملا تصادفی انتخاب

گردید به گونه‌ای که غلظت هر کاتیون در ناحیه خطی منحنی کالیبراسیون مخلوط قرار داشت. ترکیب محلولهای استاندارد سری های کالیبراسیون و پیش‌بینی به ترتیب در جدولهای (۳-۱۷) و (۳-۱۸) آمده است. روش کار در تهیه محلولهای سری های کالیبراسیون و پیش‌بینی همانند روش به کار گرفته شده در کالیبراسیون یک متغیره بود، با این تفاوت که در اینجا حجم‌های مورد نیاز از هر دو محلول استاندارد مس و کبالت اضافه می‌شود. از طرفی بجای اندازه‌گیری جذب محلولها در دو طول موج ۵۳۲ و ۵۵۵ نانومتر طیف جذبی مخلوط کمپکسهای هر دو کاتیون در دامنه طول موج ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر ثبت گردید. به گونه‌ای که برای هر محلول ۱۰۱ داده جذبی در ۱۰۱ طول موج متفاوت ثبت شد. داده‌های ثبت شده به صورت دو ماتریس  $24 \times 101$  و  $8 \times 101$  ابتدا با روش میانگیری مرکزی پردازش شد. سپس با استفاده از داده های سری کالیبراسیون مدل‌سازی صورت گرفته و در نهایت مدل ساخته شده توسط سری پیش بینی مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۳-۲-۱۲-۲-۳- رگرسیون حداقل مربعات جزئی

۳-۲-۱۲-۲-الف: رگرسیون حداقل مربعات جزئی به روش PLS

داده‌های سری کالیبراسیون به صورت یک ماتریس  $24 \times 101$  برای مدل‌سازی و داده‌های سری پیش‌بینی به صورت یک ماتریس  $8 \times 101$  برای ارزیابی مدل به روش حداقل مربعات جزئی به کار گرفته شد. ابتدا مدل‌سازی صورت گرفته و سپس مدل مورد نظر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این روش در جدول (۳-۲۰) آورده شده است.

۳-۲-۱۲-۲-ب: رگرسیون حداقل مربعات جزئی به روش MC-PLS

داده‌های سری کالیبراسیون به صورت یک ماتریس  $24 \times 101$  برای مدل‌سازی و داده‌های سری پیش‌بینی به صورت یک ماتریس  $8 \times 101$  برای ارزیابی مدل به روش حداقل مربعات جزئی به کار گرفته شد. در مدل‌سازی پیش پردازش PLS 1 داده‌های اصلی پس از پردازش به روش میانگیری مرکزی مورد استفاده قرار گرفت. پس از پردازش داده‌ها و مدل‌سازی به روش حداقل مربعات جزئی و ارزیابی مدل مورد نظر، مشخص شد که چنانچه داده‌های طیفی در محدوده طول موج ۶۰۰-۵۲۰ نانومتر باشند نتایج بهتری به دست خواهد آمد. در شکل‌های

(۱۷-۳) و (۱۸-۳) طیف‌های مخلوط در سری کالیبراسیون و پیش‌بینی در محدوده ۶۰۰-۵۲۰ نانومتر پس از میانگیری مرکزی نشان داده شده است.

جدول (۲۰-۳) نتایج حاصل از بکارگیری روش PLS برای پیش‌بینی غلظت اجزا در سری پیش‌بینی

خطای نسبی		غلظت پیش‌بینی شده		غلظت واقعی		محلول
کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	
۱۸/۰	-۶/۰۰	۱/۱۸	۰/۴۷۰	۱/۰۰	۰/۵۰۰	۱
۱۴/۲	-۱/۲۲	۱/۳۷	۰/۶۹۲	۱/۲۰	۰/۷۰۰	۲
۷/۱۴	-۰/۰۰	۱/۵۰	۱/۳۰	۱/۴۰	۱/۳۰	۳
۳۰/۰	-۵/۳۳	۰/۷۸۰	۰/۵۶۸	۰/۶۰۰	۰/۶۰۰	۴
۱۲/۷	-۱/۵۰	۱/۶۹	۰/۳۹۴	۱/۵۰	۰/۴۰۰	۵
۷/۱۴	-۰/۰۰	۱/۵۰	۱/۲۰	۱/۴۰	۱/۲۰	۶
۱۹/۰	-۲/۶۲	۱/۱۹	۰/۷۷۹	۱/۰۰	۰/۸۰۰	۷
-۶/۸۲	-۴/۰۰	۲/۰۵	۱/۴۴	۲/۲۰	۱/۵۰	۸

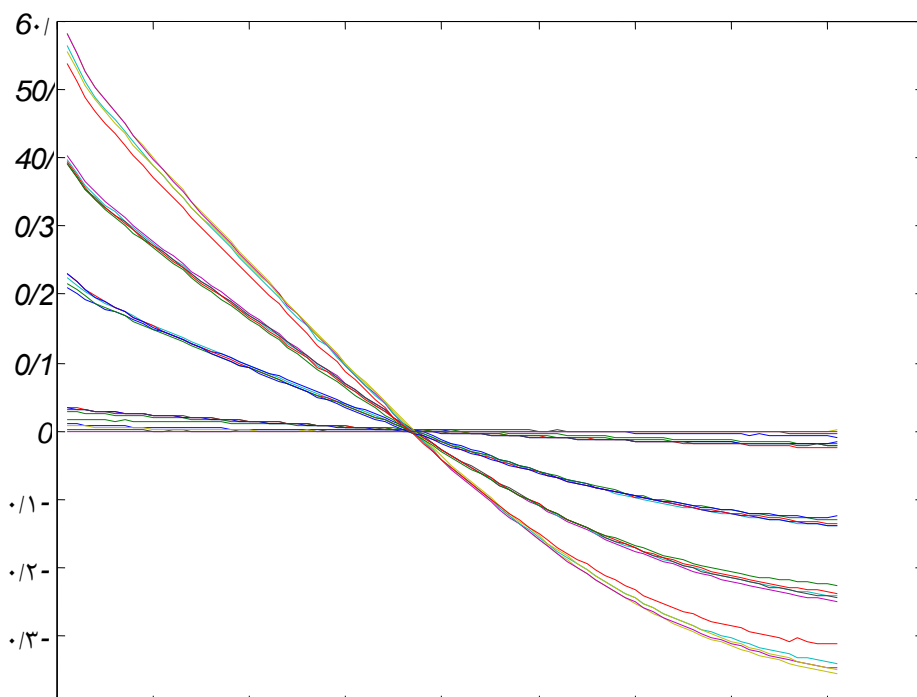
جدول (۳-۲۱) ترکیب غلظتی مخلوطهای دوتایی مس و کبالت در سری کالیبراسیون

غلظت مس بر حسب $\mu\text{g/ml}$	غلظت کبالت بر حسب $\mu\text{g/ml}$
۰/۰۰	۰/۱۰
۰/۱۰	۰/۰۰
۰/۱۰	۰/۱۰
۰/۶۰	۰/۱۰
۱/۱	۰/۱۰
۱/۶	۰/۱۰
۰/۰۰	۰/۸۰
۰/۶۰	۰/۰۰
۰/۱۰	۰/۸۰
۰/۶۰	۰/۸۰
۱/۱	۰/۸۰
۱/۶	۰/۸۰
۰/۰۰	۱/۵
۱/۱	۰/۰۰
۰/۱۰	۱/۵

۰/۶۰	۱/۵
۱/۱	۱/۵
۱/۶۰	۱/۵
۰/۱۰۰	۲/۲
۱/۶	۰/۱۰۰
۰/۱۰	۲/۲
۰/۶۰	۲/۲
۱/۱	۲/۲
۱/۶	۲/۲

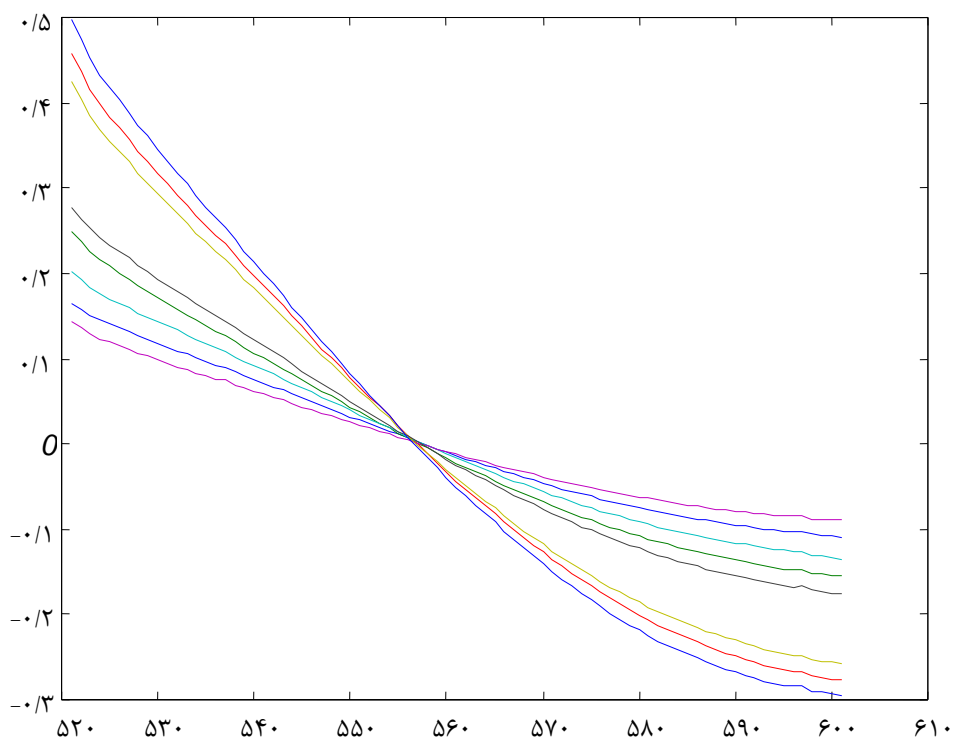
جدول (۳-۲۲) ترکیب غلظتی مخلوطهای دوتایی مس و کبالت در سری پیش‌بینی

غلظت مس بر حسب $\mu\text{g/ml}$	غلظت کبالت بر حسب $\mu\text{g/ml}$
۰/۵۰	۱/۰
۰/۷۰	۱/۲
۱/۳	۱/۴
۰/۶۰	۰/۶
۰/۴۰	۱/۵
۱/۲	۱/۴
۰/۸	۱/۰
۱/۵	۲/۲



شکل (۳-۱۶) طیف های مخلوط در سری کالیبراسیون

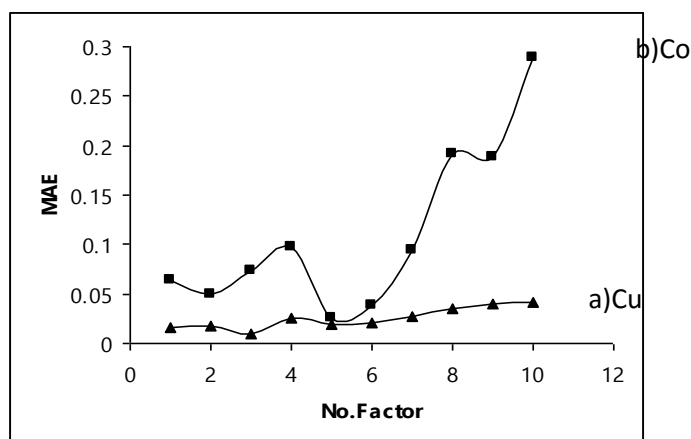
شکل (۳-۱۷) طیف های مخلوط در سری کالیبراسیون



شکل (۳-۱۸) طیف های مخلوط در سری پیش گویی

در استخراج تعداد فاکتورهای 1 PLS با استفاده از پیش پردازش برای هر کاتیون از سری پیش بینی استفاده شد. در این روش ابتدا با استفاده از نمونه های کالیبراسیون مدلسازی انجام شده و سپس برای پیش گویی

غلظت نمونه‌های سری پیش‌بینی تعداد فاکتورها برابر با یک انتخاب شده و غلظت سری پیش‌بینی تعیین شد و خطای مطلق میانگین<sup>۱۳۲</sup> برای سری پیش‌بینی محاسبه گردید. سپس تعداد فاکتورها را برابر ۲ قرار داده و از مدل برای تعیین غلظت سری پیش‌بینی استفاده شد و مقدار خطا محاسبه گردید. این فرآیند تا ۱۰ فاکتور PLS تکرار شد و سپس تعداد فاکتورها که کمترین خطا را در اندازه گیری هر آنالیت ایجاد کرده بودند برای مدل‌سازی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به نتایج تعداد فاکتورهای ۳ و ۵ به ترتیب برای مدل‌سازی PLS-MC در اندازه‌گیری مس و کبالت انتخاب شد. با بکارگیری این فاکتورها و مدل‌سازی MC-PLS مقدار خطای نسبی برای سری پیش‌بینی برای هر کاتیون محاسبه گردید. تعیین تعداد بهینه فاکتورها با توجه به کمترین خطا به صورت گرافیکی برای مس و کبالت در شکل (۳-۱۹) و نشان داده شده است. نتایج حاصل از تخمین غلظت هر کاتیون در محلولهای سری پیش‌بینی با روش PLS و MC-PLS در جدول (۳-۲۳) آمده است. با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که میزان خطا در تخمین غلظت به وسیله MC-PLS در پیش‌گویی غلظت مس کمتر از خطاهای حاصل در پیش‌گویی غلظت کبالت است. همان‌طور که از داده‌ها مشاهده می‌شود چنانچه روش MC-PLS استفاده گردد خطای نسبی (خصوصاً برای کبالت) به مراتب کاهش می‌یابد.



شکل (۳-۱۹) تعیین تعداد فاکتور بهینه برای مس و کبالت به روش MC-PLS

جدول (۳-۲۳) نتایج حاصل از بکارگیری روش MC-PLS برای پیش‌بینی غلظت اجزا در سری پیش‌بینی



خطای نسبی %		غلظت پیش بینی شده $\mu\text{g/ml}$		غلظت واقعی $\mu\text{g/ml}$		محلول
کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	
۱/۰۰	-۱/۶۰	۱/۰۱	۰/۴۹۲	۱/۰۰	۰/۵۰۰	1
۲/۵۰	-۱/۵۷	۱/۲۳	۰/۶۸۹	۱/۲۰	۰/۷۰۰	2
-۲/۱۴	۱/۵۴	۱/۳۷	۱/۳۲	۱/۴۰	۱/۳۰	3
۳/۸۳	-۱/۱۶	۰/۶۲۳	۰/۵۹۳	۰/۶۰۰	۰/۶۰۰	4
۲/۶۶	-۱/۰۰	۱/۵۴	۰/۳۹۶	۱/۵۰	۰/۴۰۰	5
۰/۰۰	۰/۸۳۰	۱/۴۰	۱/۲۱	۱/۴۰	۱/۲۰	6
۲/۰۰	-۱/۰۰	۱/۰۲	۰/۷۹۲	۱/۰۰	۰/۸۰۰	7
-۴/۹۵	-۲/۰۰	۲/۰۹	۱/۴۷	۲/۲۰	۱/۵۰	8

### ۳-۲-۱۳- ارزیابی آماری و مدل‌های ساخته شده

برای ارزیابی مدل ساخته شده‌ی پیش پردازش PLS برای هر کاتیون چهار پارامتر آماری محاسبه شد.

۱- خطای استاندارد پیش‌بینی<sup>۱۳۳</sup>

$$SEP = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{c}_i - c_i)^2}{n-1} \right]^{\frac{1}{2}}$$

این پارامتر از رابطه زیر به دست می‌آید.

(۱-۳)

۲- خطای نسبی پیش‌بینی<sup>۱۳۴</sup> (REP)

1-Standard Error of Prediction (SEP)  
2-Relative Error of Prediction (REP)

این پارامتر که به صورت درصد بیان می‌شود برای ارزیابی توانایی پیشگویی روش به کار می‌رود. برای محاسبه REP از رابطه (۲-۳) استفاده گردید.

$$REP = \frac{100}{\bar{C}} \left[ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^m (C_i - \hat{C}_i)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2-3)$$

۳- ضریب همبستگی<sup>۱۳۵</sup> که میزان همبستگی غلظت‌های پیش‌بینی شده توسط مدل و غلظت‌های واقعی را نشان می‌دهد و نشان دهنده‌ی میزان قرارگیری داده‌ها بر روی خط راست برای هر جزء می‌باشد. مقدار  $R^2$  از رابطه (۳-۳) محاسبه می‌گردد.

$$R = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \hat{C}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3-3)$$

۴- میانگین خطای مطلق

این پارامتر از رابطه (۴-۳) محاسبه می‌شود.

$$\%MAE = \frac{100}{n} \left[ \sum_{i=1}^n |C_i - \hat{C}_i| \right] \quad (4-3)$$

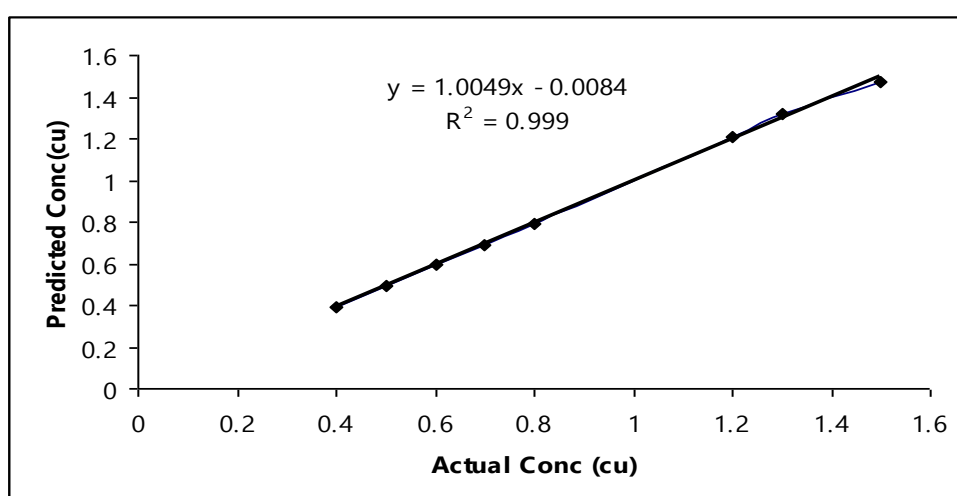
در روابط فوق  $C_i$  غلظت واقعی یون مورد نظر در نمونه آم،  $\hat{C}_i$  غلظت پیش‌بینی شده‌ی گونه آم،  $\bar{C}$  میانگین غلظت واقعی در سری پیش‌بینی و  $n$  تعداد نمونه‌های مورد پیش‌بینی است. مقادیر محاسبه شده  $\%MAE$ ،  $SEP$ ،  $REP\%$  و  $r$  به همراه فاکتورهای پیش پردازش PLS در جدول (۲۴-۳) نشان داده شده است. نمودارهای غلظت پیش‌بینی شده بر حسب غلظت واقعی هرگونه با استفاده از روش پیش پردازش PLS در شکل‌های (۳-۳) و (۲۰) (۲۱-۳) آمده است. همچنین این نمودارها برای مس و کبالت با استفاده از روش PLS در شکل‌های (۳-۳) و (۲۲) (۲۳-۳) نشان داده شده است.

جدول (۲۴-۳) پارامترهای آماری محاسبه شده برای روش MC-PLS و PLS

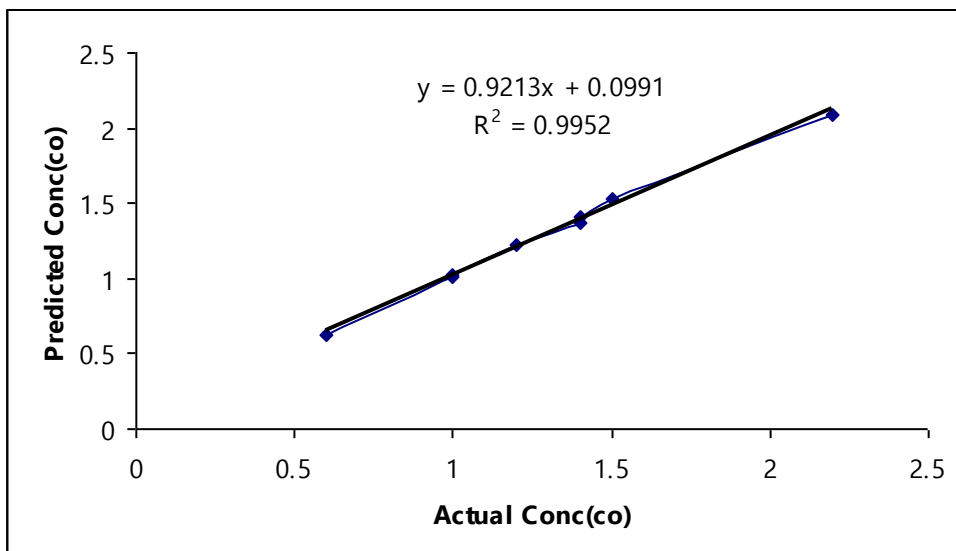
کبالت		مس		پارامتر
MC-PLS	PLS	MC-PLS	PLS	

3-Correlation Coefficient ( $R^2$ )

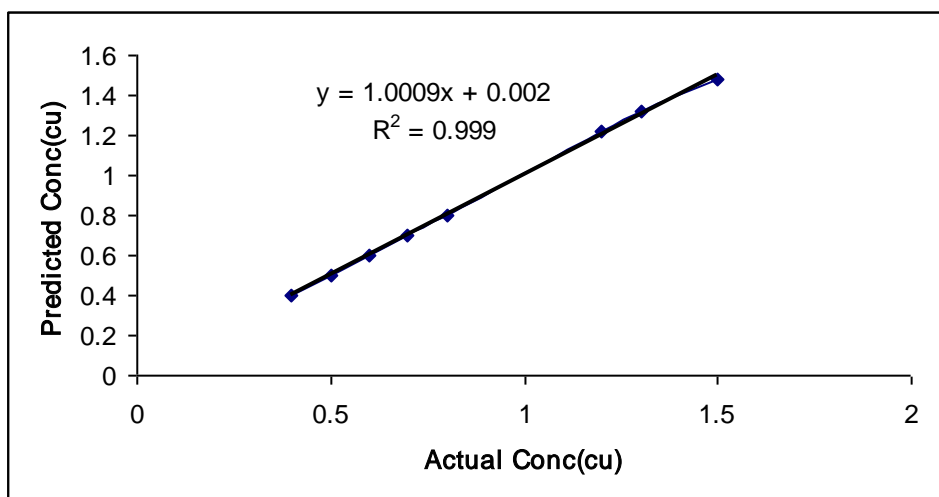
۰/۰۴۸۶	۰/۰۶۸۸	۰/۰۱۵۶	۰/۰۱۳۸	SEP
۳/۵۳	۴/۹۹	۱/۶۷	۱/۴۸	REP%
۳/۲۹	۴/۹۱	۱/۲۲	۰/۹۶۲	MAE
۰/۹۹۷	۰/۹۹۲	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹	r
۵	۳	۳	۴	تعداد فاکتور



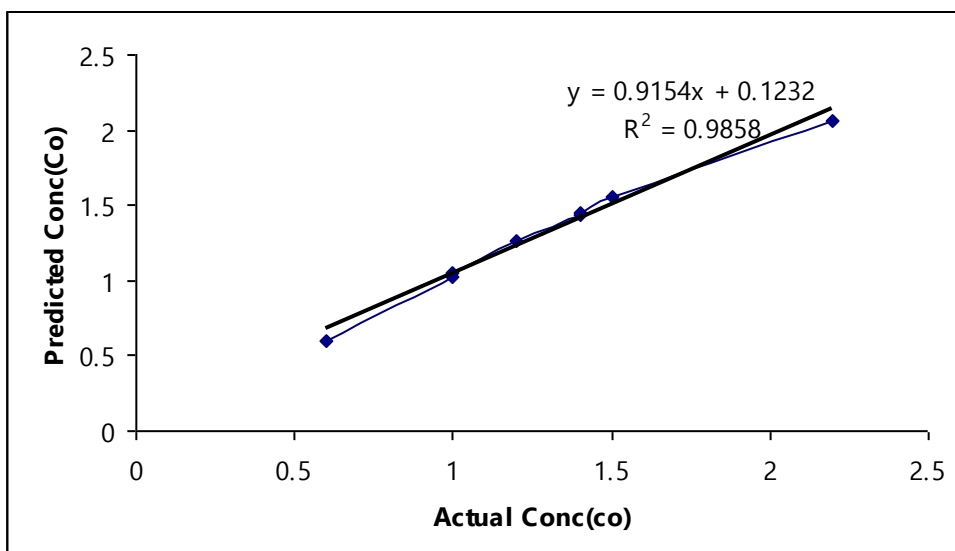
شکل (۳-۲۰) نمایش همبستگی غلظت‌های پیش‌بینی شده و غلظت‌های واقعی Cu با روش MC-PLS.



شکل (۲۱-۳) نمایش همبستگی غلظت‌های پیش‌بینی شده و غلظت‌های واقعی Co با روش MC-PLS.



شکل (۲۲-۳) نمایش همبستگی غلظت‌های پیش‌بینی شده و غلظت‌های واقعی Cu با روش PLS.



شکل (۳-۲۳) نمایش همبستگی غلظت‌های پیش‌بینی شده و غلظت‌های واقعی Co با روش PLS.

### ۳-۲-۱۴- بررسی اثر مزاحمت‌ها

برای بررسی قابلیت کاربرد روش در اندازه‌گیری همزمان مس و کبالت در نمونه‌های حقیقی اثر مزاحمت گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری همزمان کاتیونهای مس و کبالت با غلظت ۱/۰ میلی‌گرم بر لیتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که گونه مزاحم با نسبت وزنی ۱۰۰۰ برابر غلظت کاتیون‌های مس و کبالت به مخلوط این دو کاتیون اضافه گردید. سپس مقدار لازم از این محلول به سل منتقل شده و در طول موج ماکزیمم هر یک از دو کاتیون مس و کبالت مقدار جذب خوانده شد. در صورتی که سیگنال حاصله در محدوده  $\bar{A} \pm 3S_A$  قرار می‌گرفت، گونه مورد بررسی مزاحم در نظر گرفته نمی‌شد، در غیر این صورت نسبت وزنی گونه مزاحم به غلظت کاتیونهای مس و کبالت آن قدر کاهش داده شد تا سیگنال در دامنه مورد نظر قرار گیرد. نتایج حاصل در جدول (۳-۲۵) آمده است.

## ۲-۱۵- حد تشخیص

در این روش حد تشخیص سه برابر انحراف استاندارد غلظت اندازه‌گیری شده‌ی هر کاتیون می‌باشد [۱۴۴] و [۱۴۵]. برای بررسی حد تشخیص روش ۱۰ اندازه‌گیری تکراری بر شاهد انجام شد و طیف هر محلول در محدوده طول موج ۶۰۰-۵۲۰ نانومتر ثبت گردید و غلظت کاتیون مس و کبالت با استفاده از داده‌ها به روش میانگیری مرکزی در روش PLS به دست آمد. با توجه به تعریف فوق حد تشخیص تجربی روش برای کاتیونهای مس و کبالت به ترتیب ۰/۰۳۱۸ و ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد.

جدول (۳-۲۵) بررسی اثر گونه‌های خارجی و حد مجاز غلظت آنها در محیط واکنش در اندازه‌گیری کبالت و مس

نسبت وزنی گونه مزاحم به آنالیت	مس	کبالت
۱۰۰۰	$IO_4^-$ , $CO_3^{2-}$ , $HCO_3^-$ , $Cd^{+2}$ , $Al^{+3}$ , $Pb^{+2}$ , $NH_4^+$ , $Ca^{+2}$ , $Mn^{+2}$ , $HCOO^-$ $Ba^{+2}$ , $Na^+$ , $K^+$ , $NO_3^-$ , $Cl^-$ ,	$IO_4^-$ , $CO_3^{2-}$ , $HCO_3^-$ , $Cd^{+2}$ , $Al^{+3}$ , $Pb^{+2}$ , $Mn^{+2}$ , $Na^+$ , $K^+$ , $NO_3^-$ , $Cl^-$ , $NH_4^+$ , $Ca^{+2}$ ,

۸۰۰	$Br^{-}, ClO_3^{-}$	$Br^{-}, ClO_3^{-}$
۴۰۰	-	$HCOO^{-}$
۲۰۰	$Ag^{+}$	$Ag^{+}$
۱۰۰	-	$CrO_4^{-2}$
۵۰	$Mg^{+2}, CrO_4^{-2}$	-
۲۵	-	$Mg^{+2}, Ba^{+2},$
۲/۵	-	$Ni^{+2}$
۱	$Ni^{+2}$	-
>۰/۱	$Fe^{+3}, Fe^{+2}$	$Fe^{+3}, Fe^{+2}$

### ۳-۲-۱۶- دقت و صحت روش:

برای بررسی دقت و صحت روش، غلظت‌هایی در دو ناحیه از منحنی کالیبراسیون مس و کبالت انتخاب شد و محلول‌هایی با غلظت‌های انتخاب شده از مس و کبالت به صورت مخلوط دو کاتیون و شرایط بهینه سایر اجزا ساخته شد. برای هر ترکیب از مخلوط‌ها ۶ اندازه‌گیری تکراری انجام شد و طیف هر محلول در محدوده طول موجی ۶۰۰-۵۲۰ نانومتر ثبت گردید. سپس مراحل پردازش داده‌ها و پیش‌گویی غلظت با استفاده از پیش پردازش 1 PLS انجام شد. مقادیر انحراف استاندارد نسبی در هر حالت محاسبه شد که نتایج به دست آمده در جدول (۳-۲۶) آورده شده است.

جدول (۳-۲۶) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش MC-PLS

درصد بازیابی	RSD% N=6	غلظت اندازه گیری شده ( $\mu g/ml$ )	غلظت واقعی ( $\mu g/ml$ )

شماره محلول	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت
۱	۰/۵۰۰	۰/۵۰۰	۰/۵۰۴	۰/۵۳۲	۲/۲۲	۷/۰۸	۱۰۰/۸	۱۰۶/۴
۲	۱/۳۰	۱/۰۰	۱/۳۴	۰/۹۶	۱/۸۳	۱/۸۶	۱۰۳/۰	۹۶/۰
۳	۱/۵۰	۱/۹۰	۱/۵۰۷	۱/۸۹	۲/۱۴	۲/۴۵	۱۰۰/۴	۹۹/۵

۳-۲-۱۷- کاربرد روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی:

برای بررسی توانایی روش در اندازه‌گیری همزمان کاتیون‌های مس و کبالت روش پیشنهادی برای تعیین مقدار کاتیون‌های مورد نظر در نمونه‌های آب و آلیاژ سنتزی به کار گرفته شد.

برای تهیه نمونه‌های آب از آب شهر شاهرود به عنوان بافت ثابت نمونه‌ها استفاده شد. روش کار به این صورت بود که مقادیر مشخصی از کاتیون‌های مس و کبالت به آب شهر اضافه گردید تا نمونه‌های سنتزی به دست آید. این نمونه‌ها با استفاده از روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفته و کاتیون‌های مس و کبالت در آنها اندازه‌گیری شد. هر اندازه‌گیری ۶ بار تکرار شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۲۷) آورده شده است.

آلیاژ آنالیز شده دارای مشخصات زیر می‌باشد:

ترکیب درصد: Al(10%),Co(30-40%),Cu(50-60%)

پس از سنتز آلیاژ فوق ۱/۰ میلی‌لیتر از آلیاژ برای ۶ بار اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری همزمان مس و کبالت در نمونه‌های آلیاژ سنتزی به روش پیش پردازش PLS در جدول (۳-۲۸) آورده شده است.



جدول (۲۷-۳) نتایج حاصل از بررسی روش MC-PLS در نمونه آب شهر شاهرود

درصد بازیابی		RSD%		مقدار اندازه گیری شده µg/ml		مقدار افزوده شده µg/ml		نمونه آب شهر شاهرود
کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	
100/0	99	2/13	5/20	0/300	0/495	0/300	۰/۵۰۰	۱
99/3	100/6	0/980	1/92	1/39	0/906	1/40	0/900	2
98/57	100/6	3/74	2/2	2/07	1/61	2/10	1/60	3

جدول (۲۸-۳) نتایج حاصل از بررسی روش MC-PLS در نمونه آلیاژ

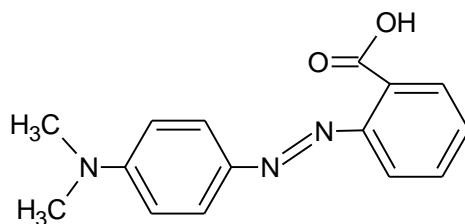
درصد بازیابی		RSD%		غلظت اندازه گیری شده µg/ml		غلظت واقعی µg/ml		نمونه آلیاژ
کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	کبالت	مس	
۱۰۰/۶	۹۸	۱/۵	۲/۳۵	۰/۳۰۲	۰/۴۹	۰/۳	۰/۵	۱
۱۰۰/۰	۱۰۰/۴	۲/۰۵	۱/۷	۱/۲۰۱	۱/۵۰۷	۱/۲	۱/۵	۱

## فصل چهارم

### بحث و نتیجه گیری

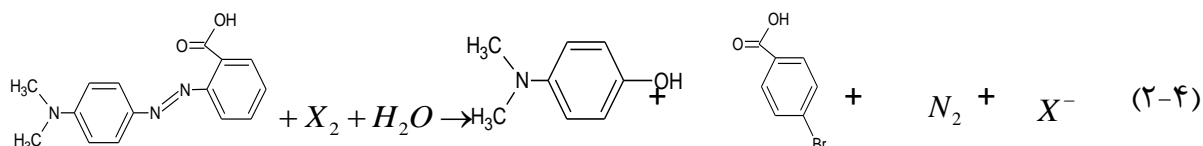
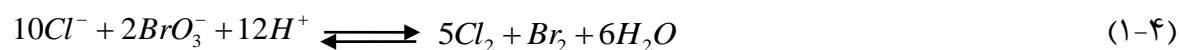
#### ۴-۱- اثر بازداری اسید آسکوربیک بر اکسایش متیل رد توسط برومات

متیل رد از دسته ترکیبات آزو است که در pH های اسیدی به رنگ قرمز و در pH بازی به رنگ زرد است. برای مثال از این رنگ به عنوان یک شناساگر اسید و باز در تیتراسیون های خنثی شدن استفاده میشود. ساختار گسترده این ترکیب در شکل (۴-۱) آورده شده است.



شکل (۴-۱) - متیل رد

ترکیب متیل رد با یون برومات در محیط هیدروکلریک اسید واکنش داده و یک محصول بیرنگ تولید می کند. بیرنگ شدن متیل رد را می توان به این صورت بیان کرد که یون برومات با یون کلرید وارد واکنش شده و محصول برم یا کلر را تولید می کند واکنش (۴-۱). برم یا کلر با متیل رد طبق واکنش (۲-۴) وارد واکنش شده، و آن را به یک ماده بی رنگ تبدیل میکند [۳۵]. در نتیجه جذب متیل رد در طول موج ۵۱۴ نانومتر با زمان کاهش می یابد شکل (۳-۱-۱).



در حضور اسید آسکوربیک سرعت این واکنش کم می شود. در حقیقت اسید آسکوربیک با برم یا کلر واکنش می دهد. همان طور که در شکل (۳-۱-۲) نشان داده شده است در حضور اسید آسکوربیک واکنش برای مدتی متوقف شده و یک زمان القاء به وجود می آید. مطالعات نشان داد که زمان القاء به طور خطی با افزایش غلظت اسید آسکوربیک افزایش می یابد. بنا براین زمان القاء که از روی منحنی جذب - زمان مخلوط واکنش در طول موج ۵۱۴ نانومتر به دست می آید. به عنوان سیگنال تجزیه ای در اندازه گیری کمی اسید آسکوربیک به کار گرفته می شود.

#### ۴-۱-۱- نتایج حال از بهینه سازی شرایط

اثر عوامل مختلف بر سرعت واکنش شاهد و نمونه در فاصله زمانی ۱۴۰-۱۰ ثانیه از شروع واکنش بررسی گردید، تا شرایط بهینه مشخص و انتخاب گردد. در بهینه سازی پارامترها از روش یک متغیر در یک زمان استفاده شد. در طی بهینه سازی از اختلاف تغییرات جذب واکنش شاهد و نمونه به عنوان سیگنال تجزیه ای استفاده شد. چون اثر غلظت اسید هیدرو کلریک بر سرعت واکنش از سایر عوامل موثر در واکنش بیشتر است، لذا غلظت اسید به عنوان اولین پارامتر در محدوده ۰/۲۴۰ - ۰/۱۰۵ مولار مورد بررسی قرار گرفت.

با افزایش غلظت اسید قدرت اکسید کنندگی برومات افزایش یافته و سرعت واکنشهای شاهد و بازداری شده نیز افزایش می یابد. با توجه به نتایج به دست آمده سرعت واکنش شاهد تقریباً به طور خطی با افزایش غلظت اسید افزایش می یابد. افزایش سرعت واکنش نمونه در غلظت های کم اسید، کم بوده و در غلظت های بیشتر از ۰/۲۱۰ مولار اسید، سرعت افزایش قابل ملاحظه ای داشته است، که علت آن فراهم شدن شرایط اکسندگی بیشتر برای واکنش نمونه می باشد. لذا در غلظت های ۰/۱۸۰ تا ۰/۱۹۵ مولار اسید، اختلاف سرعت واکنش شاهد و نمونه بیشتر شده و اختلاف تغییرات جذب واکنش شاهد و نمونه افزایش یافته است. بنابراین غلظت ۰/۱۹۰ مولار اسید به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

اثر غلظت برومات در محدوده غلظتی  $2/0 \times 10^{-4}$  -  $5/0 \times 10^{-5}$  مولار و در شرایط بهینه هیدرو کلریک اسید مورد بررسی قرار گرفت با افزایش غلظت برومات قدرت اکسید کنندگی برومات افزایش یافته و در نتیجه سرعت واکنش شاهد و نمونه افزایش می یابد چنانچه در شکل (۳-۳) مشاهده می شود با افزایش غلظت برومات تا

$10^{-4} \times 1/60$  مولار سیگنال اندازه گیری شده و حساسیت روش افزایش می یابد و در غلظت های بالاتر از آن سیگنال اندازه گیری شده کاهش می یابد که علت آن افزایش بیشتر تغییرات جذب نمونه نسبت به شاهد است. بنا براین غلظت  $10^{-4} \times 1/60$  مولار به عنوان غلظت بهینه برومات انتخاب گردید.

در شرایط بهینه هیدرو کلریک اسید  $0/190$  مولار، سدیم برومات  $10^{-4} \times 1/60$  مولار و در دمای  $20$  درجه سانتی گراد حساسیت روش با افزایش غلظت متیل رد از  $10^{-5} \times 1/85$  تا  $10^{-5} \times 2/78$  مولار افزایش یافته و سپس تا غلظت  $10^{-5} \times 2/96$  مولار تقریباً ثابت بوده و در غلظت های بالاتر کاهش یافته است. با افزایش غلظت متیل رد تا  $10^{-5} \times 2/78$  مولار سرعت واکنش شاهد بیشتر از نمونه افزایش یافته و در غلظت های بالاتر از  $10^{-5} \times 2/96$  مولار متیل رد سرعت واکنش نمونه نسبت به شاهد بیشتر افزایش یافته است. بنا براین غلظت  $10^{-5} \times 2/96$  مولار متیل رد به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد تا از تغییر در غلظت متیل رد در اثر حضور گونه های مزاحم جلوگیری شود.

اثر دما بر سرعت واکنش شاهد و بازداري شده در محدوده  $30/0 - 5/0$  درجه سانتی گراد در غلظت های بهینه واکنشگرها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج در جدول (۳-۶) نشان می دهد که تا دمای  $20/0$  درجه سانتی گراد اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه افزایش یافته و در دماهای بالاتر کم می شود. در دماهای پائین تر از  $20/0$  درجه سانتی گراد افزایش سرعت واکنش شاهد نسبت به نمونه زیاد است، لذا سیگنال تجزیه ای افزایش می یابد. در دماهای بالاتر از  $20/0$  درجه سانتی گراد افزایش سرعت واکنش نمونه نسبت به شاهد بیشتر شده است، به همین دلیل سیگنال تجزیه ای در  $20/0$  درجه سانتی گراد به حداکثر مقدار خود می رسد. لذا دمای  $20/0$  درجه سانتی گراد به عنوان دمای بهینه انتخاب شد.

اثر قدرت یونی بر روی زمان القاء واکنش تحت شرایط انتخاب شده قبل و توسط پتاسیم نترات  $1/0$  مولار مطالعه گردید. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش خیلی زیاد قدرت یونی از  $0/00$  تا  $0/50$  مولار پتاسیم نترات زمان بازداري به مقدار کمی افزایش داشته است که این موضوع نشان می دهد احتمالاً در مرحله تعیین کننده سرعت واکنش، دو گونه با بار مخالف با هم واکنش می دهند. بنا براین قدرت یونی تاثیر چندانی بر زمان بازداري ندارد.

#### ۴-۱-۲- ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی ها نشان میدهد که در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در ناحیه ۳/۸-۰/۰۸ میکرو گرم بر میلی لیتر خطی است که معادله مربوط و مقدار ضریب همبستگی آن در بخش (۳-۱۲) آمده است. مقدار انحراف استاندارد نسبی برای اندازه گیریهای تکراری در غلظت های ۱/۶، ۲/۶، ۳/۶ میکرو گرم بر میلی لیتر به ترتیب ۱/۵۵٪، ۰/۹۶٪ و ۲/۸٪ است که نشان دهنده دقت نسبتا خوب روش است. مقادیر درصد بازیابی به دست آمده در جدول (۳-۸) بیانگر صحت مناسب روش است مقدار حد تشخیص تجربی برابر ۰/۰۷ میکرو گرم بر میلی لیتر است. نتایج حاصل از بررسی مزاحتها در جدول (۳-۹) نشان می دهد که تعداد زیادی از کاتیونها و آنیونها تا ۱۰۰۰ برابر وزنی مزاحمتی در اندازه گیری اسید آسکوربیک ندارند. بنابراین، نتایج گزینش پذیری خوب روش پیشنهادی را نشان می دهد. علت مزاحمت شدید یونهای کلر و برم احتمالا ناشی از اکسید شدن سریع آنها و تولید برم یا ید می باشد که باعث می شود که اثر بازدارنده اسید آسکوربیک کاهش یابد. در مورد  $SCN^-$  احتمالا واکنش زیر باعث میشود که  $SCN^-$  زمان بازدارنده را افزایش دهد [۱۴۶].



#### ۳-۱-۴ تجزیه نمونه های حقیقی و دارویی

جهت بررسی کارایی روش برای آنالیز نمونه های حقیقی روش پیشنهادی در اندازه گیری اسید آسکوربیک در نمونه های دارویی و نمونه آب با بافتهای متفاوت به کار برده شد. نتایج موجود در جداول (۳-۱۰)، (۳-۱۱) و (۳-۱۲) نشان می دهد که با روش پیشنهادی میتوان اسید آسکوربیک را با دقت و صحت خوبی در نمونه های حقیقی اندازه گیری نمود.

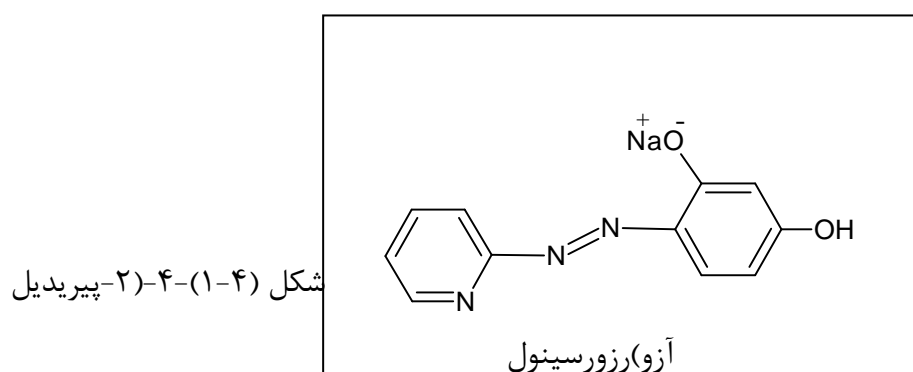
#### ۴-۱-۴- مقایسه روش با برخی از روشهای موجود در اندازه گیری غلظت اسید آسکوربیک

مقایسه روش ارائه شده با برخی از روشهای موجود از لحاظ ارقام شایستگی، هزینه روش، پیچیدگی، جنبه های زیست محیطی و سرعت می باشد و برتری های روش پیشنهادی را نسبت به سایر روشها بیان می کند. این روش نسبت به روش [۲۷] حد تشخیص پایین تری دارد همچنین روش پیشنهادی نسبت به روش [۳۲] دامنه خطی وسیعتری دارد. علاوه بر این روش زمان لازم برای اندازه گیری اسید آسکوربیک

نسبت به روش [۱۶] از نظر مدت زمان در فاصله زمانی کمتری انجام می شود. همان طور که در بخش (۱) - (۳-۱) بیان شد روشهای مختلفی اعم از سینتیکی - کاتالیتیکی، اسپکتروفتومتری، کروماتوگرافی، تزریق در جریان پیوسته و..... ارائه شده است در برخی از روشها نیاز به دستگاه های گران قیمت تری نسبت به روش پیشنهادی می باشد. در تعداد دیگری از این روشها برای اندازه گیری اسید آسکوربیک نیاز به مراحل پیچیده و طولانی انجام شود. برخی روشهایی که در آنها از تکنیک کروماتوگرافی استفاده شده است به علت استفاده از حلال های آلی مشکل آلودگی محیط زیست را به همراه دارد. روشهای سینتیکی - کاتالیتیکی معمولا دارای حساسیت بالاتر می باشند روش ارائه شده یک روش سریع و حساس است، که نیازی به مواد و دستگاه های گران قیمت ندارد.

#### ۴-۲- اندازه گیری همزمان کبالت و مس به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از کالبراسیون چند متغیره PLS

ماده ۴-۲- پیریدیل آزو) رزورسینول ماده ای به رنگ نارنجی بوده که جزء ترکیبات آزو محسوب میشود و با بسیاری از کاتیونها از جمله نیکل، مس، کبالت، کروم و آهن، تشکیل کمپلکسهای رنگی می دهد که قابل اندازه گیری در ناحیه مرئی هستند [۱۴۷]. وزن مولکولی این ترکیب  $255/61 \text{ gr/mol}$  است. ساختار گسترده این ترکیب در شکل (۴-۱) نشان داده شده است.



با توجه به تمایل کبالت (II) برای اکسید شدن به کبالت (III) در حضور لیگاند حاوی ازت [۴۳] مانند PAR به خصوص در این محیط که از اسید نیتریک نیز استفاده شده است احتمال زیاد وجود دارد که کبالت (II)

به کبالت (III) اکسید شده باشد. در این کار طول موج ماکزیمم مربوط به کمپلکس های کبالت و مس به ترتیب ۵۵۵ و ۵۳۲ نانومتر می باشد، که علت تفاوت طول موج ماکزیمم و ضرائب جذب مولی با آنچه که در جدول (۱-۴) عنوان شده است احتمالاً مربوط به تغییر فرمول و ساختار کمپلکس در محیط اسیدی می باشد. همان طور که در شکل (۳-۸) نشان داده شده است کمپلکس های مس و کبالت با PAR در محیط اسیدی پایدار می باشند و طیف آنها با هم همپوشانی دارد و امکان به دست آوردن غلظت آنها به طور مستقیم با اندازه گیری جذب هر گونه در طول موج ماکزیمم مربوطه در حضور گونه دیگر امکان پذیر نمی باشد. در این پروژه از روش دو طول موجی و روش افزایش استاندارد نقطه H و میانگین گیری مرکزی نیز جهت اندازه گیری این دو گونه در حضور هم استفاده شد که نتایج مفیدی حاصل نشد، که علت آن عدم جمع پذیری جذب ها بود. لذا روش PLS جهت اندازه گیری همزمان این دو گونه استفاده شد. اغلب کمپلکس های PAR با مس و کبالت با نسبت استوکیومتری ۱:۱ و ۱:۲ وارد واکنش میشوند [۱۴۷]

جدول (۱-۴) مقایسه طول موج، ضرائب جذب مولی، نسبت فلز به لیگاند و pH برای مس و کبالت

کبالت				مس				مرجع
M: L	$\epsilon$	$\lambda$	pH	M: L	$\epsilon$	$\lambda$	pH	
۱:۲	$5/5 \times 10^3$	۵۱ ۰	۷-۸	۱:۱	$1/1 \times 10^3$ ۲	۵۲ ۲	۱۰ و ۷۲	[۱۴۷]
-	$1/86 \times 10^4$ ۵	۵۰ ۸	۰/۰۱ NH <sub>3</sub> مولار	-	$1/70 \times 10^4$ ۶	۴۹۶	۰/۰۱ NH <sub>3</sub> مولار	[۶۰]
<sup>a</sup> ۱:۳	$1/68 \times 10^4$ ۱	۵۵ ۵	۰/۰۱ HNO <sub>3</sub> مولار	<sup>a</sup> ۱:۲	$1/60 \times 10^4$ ۱	۵۳ ۲	۰/۰۱ HNO <sub>3</sub> مولار	روش پیشنهاد ی

(a) در شرایط بهینه به روش نسبت مولی با اندازه گیری جذب در طول موج ماکزیمم جذب هر کمپلکس در دو غلظت متفاوت از هر کاتیون، نسبت فلز به لیگاند تعیین شد.

#### ۴-۲-۱- بررسی پارامترها و بهینه سازی شرایط

همان طور که قبلا اشاره شد کمپلکس های PAR با فلزات مختلف در محیط خنثی تا قلیایی پایدار می باشند که طیف های کمپلکس های این کاتیونها با هم همپوشانی داشته و در اندازه گیری یکدیگر تداخل ایجاد می کنند. در این پروژه از محیط اسیدی استفاده گردید، چون در محیط اسیدی بسیاری از این کمپلکس ها تفکیک شده ولی کمپلکس های کبالت و مس پایدار می مانند. لذا با اسیدی کردن محیط می توان مزاحمت سایر کاتیونها را حذف یا کاهش داد. بنا براین اسید نیتریک برای افزایش گزینش پذیری روش افزوده شد، هر چند که تا حدی حساسیت در محیط اسیدی کاهش یافت. بنابراین اولین پارامتری که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفت غلظت اسید نیتریک بود کمپلکسهای مس و کبالت با PAR در محیط آمونیاکی به سرعت تشکیل میشوند. تاثیر غلظت اسید نیتریک در محدوده ۰/۰۰۲۰ تا ۰/۰۱۶ مولار بررسی گردید شکل (۳-۹). از غلظت ۰/۰۰۸۰ مولار تا ۰/۰۱۶ مولار اسید نیتریک جذب کمپلکس های مس و کبالت ثابت است. لذا غلظت ۰/۰۱۰ مولار به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

پارامتر دومی که مورد بررسی قرار گرفت اثر غلظت PAR در محدوده  $2/35 \times 10^{-5}$  تا  $4/23 \times 10^{-4}$  مولار بود. نتایج حاصله در جدول (۳-۱۵) نشان میدهد که برای مس با افزایش غلظت PAR تا  $7/05 \times 10^{-5}$  مولار سیگنال افزایش یافته و پس از آن سیگنال ثابت باقی می ماند. بر طبق این نتایج جذب کمپلکس کبالت با افزایش غلظت PAR تا  $1/17 \times 10^{-4}$  مولار به مقدار زیادی افزایش یافته و در غلظت های بالاتر از  $1/17 \times 10^{-4}$  مولار میزان افزایش جذب کم می باشد. لذا غلظت  $1/17 \times 10^{-4}$  مولار به عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید.

اثر قدرت یونی بر حساسیت تحت شرایط بهینه اسید نیتریک ۰/۰۱۰ مولار و PAR  $1/17 \times 10^{-4}$  مولار با استفاده از نمک پتاسیم سولفات ۱/۰ مولار بررسی شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۵) نشان داده شده است. به دلیل اینکه ثابت تشکیل کمپلکس فوق بزرگ می باشد بنا براین قدرت یونی تاثیر چندانی ندارد. لازم به ذکر است که زمان تشکیل کمپلکس های کبالت و مس در حضور آمونیاک با PAR از ۵ ثانیه تا ۱۰ دقیقه پس از مخلوط آنها بررسی گردید و سپس اسید نیتریک افزوده شد که نتایج نشان داد هر دو کمپلکس به سرعت تشکیل میشوند و لازم نیست تا زمانی صرف تشکیل کمپلکس گردد. لذا از این جهت روش وقت گیر نبوده و سریع می باشد.



#### ۴-۲-۲-منحنی های کالیبراسیون

با توجه به منحنی های کالیبراسیون تک متغیره برای هر یک از کاتیونهای مس و کبالت میتوان هر یک از این کاتیونها را در صورتی که گونه های مزاحم همراه آنها نباشد در دامنه خطی مربوط در جدول (۳-۱۷) و (۳-۱۸) اندازه گیری نمود. همچنین منحنی کالیبراسیون مخلوط نیز برای این دو گونه در حضور هم به دست آمد که نتایج منحنی کالیبراسیون مخلوط نشان میدهد که دامنه خطی مس در حضور کبالت ۱/۷-۰/۰۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر و دامنه خطی کبالت در حضور مس ۲/۲-۰/۰۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر است. برای به دست آوردن سری کالیبراسیون میتوان هم به طریقه تصادفی و هم به طریق طراحی شده غلظت ها را در دو ناحیه خطی مخلوط انتخاب کرد، که در این کار از روش طراحی شده استفاده گردید. ابتدا پیش پردازش داده ها به روش میانگین گیری مرکزی و مدلسازی به روش حداقل مربعات جزئی و ارزیابی مدل در محدوده های مختلفی از طول موج انجام شد و مشخص گردید که در صورتی که محدوده ۶۰۰-۵۲۰ نانومتر انتخاب شوند و سپس پردازش گردند، نتایج بهتری به دست خواهد آمد. نتایج حاصل در جدول (۳-۲۳) نشان میدهد که پیشگویی غلظت مس نسبت به کبالت خطای کمتری دارد. برای تعیین تعداد فاکتور بهینه و یا به عبارتی برای مدلسازی از روش مجموع خطا استفاده شد و تعداد فاکتور بهینه با کمترین MAE% بر اساس شکل (۳-۱۸) برای هر یک از کاتیونهای مس و کبالت به ترتیب برابر ۳ و ۵ به دست آمد.

#### ۴-۲-۳-ارزیابی آماری مدل ساخته شده

بر اساس نتایج آماری جدول (۳-۲۳) به نظر میرسد که تکنیک PLS1 با پیش پردازش داده ها به روش میانگین گیری مرکزی برای اندازه گیری همزمان کاتیونهای مس و کبالت با صحت پیش بینی خوب یک روش چند متغیره مناسب می باشد.

#### ۴-۲-۴-گزینه پذیرش روش

اثر مزاحمت گونه های بالقوه مزاحم در اندازه گیری ۱ میلی گرم بر لیتر هر یک از کاتیونهای مس و کبالت در جدول (۳-۲۶) نشان دهنده این است که اکثر کاتیونها زمانیکه حدود ۱۰۰۰ برابر وزنی در محیط وجود داشته باشند مزاحمتی ایجاد نکرده و در نتیجه روش گزینه پذیرش خوبی دارد. مزاحمت گونه های مانند  $Fe^{2+}$  و  $Fe^{3+}$  با عوامل پوشاننده ای همچون ۱ و ۱۰ فنانترولین و سیترات مرتفع نگردید.

#### ۴-۲-۵- کاربرد روش در نمونه های حقیقی

کارایی این روش در اندازه گیری همزمان دو کاتیون مس و کبالت با تجزیه نمونه های حقیقی شامل آب و آلیاژ مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر درصد بازیابی و RSD در جدول (۳-۲۷) نشان دهنده صحت و دقت خوب این روش در اندازه گیری همزمان کاتیونهای مس و کبالت می باشد.

### **Kinetic spectrophotometric determination of ascorbic acid based on inhibition effect in sodium bromat-methyl red system.**

Abstract

A new simple and sensitive kinetic spectrophotometric method for determination of ascorbic acid is proposed. Method is based on the inhibition effect of ascorbic acid on the sodium bromat-methyl red system in acetic media.

The induction period of reaction is proportional to the ascorbic acid concentration. The decolorization of methyl red by the reaction products was used to monitor the reaction spectrophotometrically at 514 nm. Under optimum condition ascorbic acid can be determined in the range of 0.2-3.8  $\mu\text{gml}^{-1}$  with a 3 $\sigma$  detection limit of 0.1  $\mu\text{gml}^{-1}$  the relative standard deviation for ten replicate determinations of 1.6, 2.6, 3.6  $\mu\text{gml}^{-1}$  are 1.55, 0.96, 2.8 % respectively. This method has been successfully used to the determination of ascorbic acid content in tablets and spiked water sample.

Keyword: Ascorbic Acid, Methyl Red, Induction period, Kinetic, Spectrophotometry.

### **Simultaneous determination of copper(II) and cobalt(II) with spectrophotometric method using multivariate calibration partial least squares by mean centering of ratio spectrum**

Abstract:

In this project a simple and sensitive spectrophotometric method for simultaneous determination of copper(II) and cobalt(II) is proposed. Method is based on complex formation of copper(II) and cobalt(II) with 4-(2-pyridylazo)resorcinol. All effective parameters on sensitivity of the method were optimized. Calibration (24 samples) and prediction (10 samples) data sets were prepared by measuring the absorbance of binary mixtures of Cu(II) and Co(II) in the concentration ranges of 0.0-1.6  $\mu\text{gml}^{-1}$  and 0.1-2.2  $\mu\text{gml}^{-1}$  for Cu(II) and Co(II) respectively. The results obtained by applying PLS method based on the SVD was used for multivariate modeling MCR approach was used for preprocessing of absorbance data. The obtained results by applying PLS with and without MCR were statistically compared. The 3 $\sigma$  detection limits were 0.0318 and 0.050 for copper(II) and cobalt(II) respectively. The relative standard deviations for six replicate determinations of 1.3 and 1.0  $\mu\text{gml}^{-1}$  copper(II) and cobalt(II) were 1.83 and 1.86 respectively. The method has been applied to the simultaneous

determination of copper(II) and cobalt(II) in alloy and tap water sample with satisfactory results.  
(Recovery 100.4 -103.0% for copper(II) and 96.0-106.4% for cobalt(II)).

Keywords: copper(II), cobalt(II), Partial Least Squares, Singular Value Decomposition, Mean Centering, spectrophotometry.

[1]-Krik-Other. "Concise, "Encyclopedia of Chemistry Technology", Wiley, New York(1999)

[2]-Krik-Other, "Concise "Encyclopedia of Chemistry Technology",vol6 Wiley, New York,(1979).

[3]- فرمنده . ه، ابراهیم زاده . ح، حائری روحانی . ع، سپهری . ح، مقدم . ف، منتصر کوهساری . ش، خاوری خراسانی . ه، ملک زاده . ف، شهمت . م، زیست شناسی عمومی ، مرکز نشر دانشگاهی تهران، **1379**.

[4]-www.Vitamin C.com.

[5]- شهر اسبی . ح، "منابى غذایى و اثرات حیات بخش ویتامینها"، انتشارات جهاد دانشگاهی.

[6]- قنبر زاده . ب، "شیمی مواد غذایى (2)" انتشارات پارس نگار و نشر علوم کشاورزی **1378**.

[7]- S Ferreire., M Bandeira.,V Lemos.,Fresenius..j .Anal.Chem.357(1997)1174.

[8]- O.H Abdelmageed., P.Y Khashaba., H.F Askal.Talanta.42(1995)573 .

[9]- Y Morii. Fujita, Anal Sci, 17 (2001) PP:853-857.

[10]-Tabata. Maaki, Morita Hirofumi, Talanta, 44,(1997), 151-157.

[11]-Hamid R.Zare.,. N Rajabzadeh, Nasirizadeh., M Mazlum Ardakan.,

Electroanaly, Chemistry, 589,(2006),PP:60-69.

[12]-Mohammad. Nezamzadeh.Amini. K, Hossein Faghihian , Int,J.Electroch, Sci, 2,(2007),PP:583-594.

[13]-Y Fung ., S Mo.,Anal.Chim.Acta.267(1992)357.

[14]- J.M,Irache Ezpelete. L, . F.A.,VegaChromatographia.35(1993)232.

[15]- H. Iwas., I. Ono., J.Agric.Food. Chem.45(1196)12.

[16]- B.S. Samulla., E.W. Dale.,J.Chem Educ,81(2004)1479.

- [17]- A..A. Ensafi., B. Rezaei.,Anal.Lett.31(1998)333.
- [18]- Cai HuanG Houping., Yumin Du, Yung Zeng, Anal.Chim.Acta, 309 (1995)  
PP:271-275.
- [19]-Bae. Zun-Ung, Park. Jeong-Hyun, Lee. Sang-Hak. and. Hye, Young–Chang,  
J.Electryanalytical Chemistry. 468(1999)PP:85-90.
- [20]-Cesare. Julio, Fernandes. B. Graciliano..Oliveira Neto. De, Kubota. Lauro. T.  
Anal. Chim. Acta. 366(1998)PP:11-22.
- [21]- M. Vecchi., K. Kaiser, J.Chromatography.partA,26(1967)PP:22-29.
- [22]- . M.I.Karayannis, Anal, Chim, Acta,76 (1975) PP:121-130.
- [23]- F.F Gaal., V.I. Soros, V.J .Vajgand., Anal, Chim, Acta,84(1976)PP:127-  
134.
- [24]- Ezio. Pelizzetti., Edvardo. Mentasti., Anal Chim Acta. 108 (1979) PP:441-  
443.
- [25]-S.A., M. Timotheou. Potumia, Anal.Chem.Acta.227(1989)PP:405-419.
- [26]- H.K. Chung., J.D. Ingle..Anal.Chimi.Acta,243(1991)PP:89-95.
- [27]- H.K. Chung., J.D. Ingle..Talanta,38(1991)PP:355-357.
- [28]- A .Safavi, L. Fotouhi.,Talanta,41(1994)PP:1225-1228.
- [29]- G.H. Daood.,. A.P. Biacs.,.Dakar.A.M,F.Hajdu,J.Chromatogr.Sci.32(1994)  
481.
- [30]- M. Vazquez., B. Vazquez.. M, H. I. Iopez, L. J. Simal, R. M. Romero ,J. AOAC.  
Int. 77 (1994), 1056.
- [31]- S. P. Arya., M. Mahajan, Anal.Sci,11(1195),PP:853-855.
- [32]-

- [33]-Fung. Jing, Ye. Cunling, Feng. Suling, Zhang. Guien, Wang, Jianji, Talanta, 50(1999) PP:893-898.
- [34]- D. H. Gua., L. Xia, Sepa, 19(2001), 276.
- [35]-A. A. Ensafi, B. Rezaei., H. Movahedinia., Spec. Chimi. Acta, part A. Molecular and Biomolecular. Spec, 58(2002), PP:2589-2594.
- [36]- Zeynep. Aydogmus., Ozgun. Mahmure Ustun, Turk. J. Chem, 26(2002), PP:697-704.
- [37]- Suling. Feng., Jin. Wang., Zingguo. Chen., Jing. Fan.. Spec. Chimi. Acta. Mol and Biomole. Spect. 61(2005) PP:841-844
- [38]- Dilgin. Y, Nisli. G, Chem and Pharm Bullentin, 53(2005), PP:1251-1254.
- [39]- Liu. Jianhua, Itoh. Jun-Ichi. Spectro. Chimi. Acta. Mole. Biomole. Spect. 67 (2007), PP:455-459.
- [40]- H. D. Revanasiddappa, M. A. Veena, Electro. J. Chemi. 5(2007), PP:10-15.
- [41]- wikipedi.org
- [42]- N, N. Greenwood., A. Earnshaw., "Chemistry of Elements", pergamon press, oxford 1948.
- [43]- کوتی، م، "مفاهیم شیمی فلزات واسطه"، انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، **1375**.
- [44]- اسدی، م، "کمپلکسها و عناصر واسطه ردیف اول"، انتشارات دانشگاه شیراز، **1376**.
- [45]- P. Pohl., B. Prusisz.. Analytica Chimica Acta 502, (2004), PP:83-90.
- [46]- Varinder. Kaur., Jatinder. Aulakh.. Singh., Ashok Kumar. Malik. "Analytica Chimica. Acta". 603(2007), PP:44-50.
- [47]- Vuković J, Matsuoka. S, Yoshimura. K, Grdinić. V, Jurišić Grubešić R, Županić. O. Talanta, 71( 2007) PP:2085-2091.
- [48]- Wittaya Ngeontae, Wanlapa Aeungmaitrepirom and Thawatchai. Tuntulani

- Talanta.71(2007)PP:1075-1082.
- [49]-Samuel. Melaku, Richard. Dams, Luc. Moens Analytica Chimica Acta 543 (2005),PP: 117-123
- [50]-Zajkova Paneva. Vesna, Čundeва. Katarina, Stafilov. Trajče Spectro. Chimica. Acta Part B: Atomic Spectroscopy 60, (2005), PP: 403-407
- [51]- Ioannidou. M. D, Zachariadis. G. A, Anthemidis. A. N, Stratis. J. A, Talanta 65( 2005), PP: 92-97
- [52]- Matsumiya. Hiroaki, Kageyama. Tomohiro, Hiraide. Masataka, Analytica Chimica.Acta.507(2004)PP:209-213.
- [53]-Guo. Yong, Din. Bingjun, Liu. Yongwen, Chang. Xijun, Meng. Shuangming, Liu. Jianhong, Talanta 62, Issue 1( 2004), PP 207-213.
- [54]-Misra. N.L, Mudher. K.D. Singh, Adya. V.C, Rajeswari. B, Venugopal. V. Spectro. Chimica. Acta Part B: Atomic Spectroscopy.60(2005),PP:834-840
- [55]-Menegário. Amauri. A, Pellegrinotti, Daniel. C, Giné. Maria Fernanda. Virgílio. F, Filho. Nascimento, Spectro.chimica Acta Part B: Atomic Spectro. 58(2003),PP:543-549.
- [56]-Yin. Jun, Jiang. Zucheng, Chang. Gang, Hu. Bin Analytica Chimica Acta 540(2005),PP:333-339.
- [57]-Sabarudin. Akhmad, Lenghor, Narong, Oshima. Mitsuko, Hakim. Lukman, Takayanagi. Toshio, Gao. Yun-Hua, Motomizu. Shoji Talanta 72(2007), PP:1609-1617.
- [58]-Maltez, Heloisa França, Vieira. Mariana Antunes, R. A Schwingel, Adilson José Curtius and Eduardo Carasek Talanta, (2007)
- [59]- O. Hernández, A. I. Jiménez, F. Jiménez and J. J. Arias Analytica Chimica

- Acta310(1995)PP:53-61.
- [60]-E.Gemes,J.M.Estela,V.Cerda,M.Blanco,Fresenius.  
J.Anal.Chem342(1992)PP:318:321.
- [61]-T. Khayamian, Ali A. Ensafi and B. Hemmateenejad Talanta 49(1999)  
PP:587-596.
- [62]- brahim Narin, Mustafa Soylak, Latif Elçi and Mehmet Doan Talanta, 52  
(2000)PP:1041-1046.
- [63]- Facundo M. Fernández, Mabel B. Tudino and Osvaldo E. Troccoli Analytica  
Chimica Acta 433( 2001)PP:119-133.
- [64]- V. Umashankar, R. Radhamani, K. Ramadoss and D. S. R. Murty Talanta  
57(2002)PP:1029-1038.
- [65]-Emma.Muñoz,Susana.Palmero.Ma Angeles García-García Talanta 57, Issue  
5(2002)PP:985-992.
- [66]- Yan Li, Yan Jiang and Xiu-Ping Yan Talanta 64(2004)PP:758-765.
- [67]- Leila Hejazi, Diako E. Mohammadi, Yadollah Yamini and Richard G.  
Brereton Talanta 62, Issue 1, (2004)PP:183-189.
- [68]- Tatiana Dillenburg Saint'Pierre, Tatiane de Andrade Maranhão, Vera Lúcia  
Azzolin Frescura and Adilson José Curtius Spectrochimica Acta Part B:  
Atomic.Spectroscopy,60,Issue5(2005)PP:605-613.
- [69]-M. Hasani, L. Yaghoubi and H. Abdollahi Talanta. 68, Issue5(2006)PP:  
1528-1535
- [70]-E.K.Janghel,V.K.Gupta,M.K.Rai, J.K.Rai, 72,(2007) PP:1013-1016.
- [71]-Heloisa França Maltez, Mariana Antunes Vieira, Anderson Schwingel  
Ribeiro, Adilson José Curtius and Eduardo Carasek Talanta. 74, Issue  
4(2008)Pages 586-592

- [72]-D.A.Skoog & J.J.Leary."Principle of Instrumental Analysis",  
Saunders,Cillage. Publishing 1992
- [73]-J.D.Ingle and S.R.Crouch.Spectrochemical Analysis Prentice-Hall,1988.
- [74]-H.KaiserAnalytical Chemistry, 1987,42,100.
- [75]- غ.ع.پارسا فر، ب.نجفی، سینتیک شیمیایی (مبانی و کاربردها)، مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، چاپ اول، **1378**، صص **1-23**
- [76]-H.A.Mottola. Kinetic Aspects of Analytical Chemistry, Johan Wiley and Sons, 1988.
- [77]-E.B.Sandell and I.M.Kolthoff , J.American Chemical society. 56(1934)1426.
- [78]- D.A.Skoog, D.N.West and F.J.Holler,"Fundamental of Analytical Chemistry"  
,6<sup>th</sup> ed, Philadelphia. Anders College Publishing, 1985.
- [79]-م. عرب چم جنگلی، اندازه گیری سینتیکی – اسپکتروفتومتری رودیم بر اساس اثر کاتالیزوری آن بر اکسایش نیل بلو به وسیله سدیم پریدات و روش تزریق جریان پیوسته، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده شیمی، پایان نامه کارشناسی ارشد، **1376**.
- [80]-G.D.Chirstian and J.E.Orelliy, "Instrumental Analysis" , 2<sup>nd</sup> ed, Prentice-Hall.1986.
- [81]-D.P.Bendito and M. Silva., "Kinetic Methods in Analytical Chemistry",  
Ellis Horwood ,Chichester b,1988
- [82]-H.A.Mottola, Critical Review of Analytical Chemistry,4(1975)P:229.
- [83]-P.R.Bontchev, Talanta , 1970,17,499.
- [84]-J.D.Ingle, JR and S.R.Grouch, Analytical Chemistry, 1971,43,697.
- [85]-L.G.Papa, J.H.Paterson and H.B.Mark, Analytical Chemistry, 53(1963)1889.
- [86]-J.A.Amberson,G.Svehla, Analytical.Chimica.Acta, 178,225,1985.
- [87]-T.Kakizaki, K.Hasebe.H.Yoshida, Analyst.112(1985)1593.



- [88]-F.L.Hahn, *Analytica.Chimica.Acta* 11(1954)482.
- [89]-W.J.Jardim, J.J.R.Rohwedder, *Analyst*, 111(1986)489.
- [90]-P.Vinas,M.Hernandez-Corduba,Anal,C,Sanchez-Pedreno,  
Talanta,34(1987)351.
- [91]-D.J.Themlis, G.S.Vasilikiotis, *Analyst*,112(1987)791.
- [92]-T.Fakasawa, S.Kwakuhbo, A.Unno, *Analytica.Chimica.Acta*, 1986,269.
- [93]-ق-باقریان دهقی، "اندازه گیری مقادیر کم سلنیم و تیوسولفات به روش سینتیکی - اسپکتروفتومتری"، دانشکده شیمی،دانشگاه صنعتی اصفهان- پایان نامه کارشناسی ارشد، **1373**.
- [94]-W.Moore and R.G.Purson, "Kinetic and Mechanism" ,3<sup>rd</sup> ed, John Wiley and Son, Inc, 1981.
- [95]-R.Westton, JR and H.A Schwarz, "Chemical Kinetics" Prentic-Hall, Inc, 1972.
- [96]-S.Wold,Kemisk, Tidskr, 3,(1972),34.
- [97]-P.C.Jurs,B.R.Kowalski,T.L.Isenhour,C.N.Reilly,Anal.Chem,41(1969)690.
- [98]-P.C.Jurs,B.R.Kowalski,T.L.Isenhour,C.N.Reilly,Anal.Chem,41(1969)695.
- [99]-C.F.Bender. comput, Chem, Res, Educ, proc Int, Conf. 2,(1973),3170.
- [100]-H.C.Brown,Anal.Chem.68(1996)232R.
- [101]-D.L.Massart,B.G.M.Vadeginste,L.M.C.Buydens,S.D.Jone,P.G.Lewi,  
J.Sineyers."Handbook of chemometrics &  
Qualimetrics",PartA,Elsevier.Science,Amsterdam 1997.
- [102]-O.R.Kowalski, J.Chem, Inf, Comp, Sci, 15(201)1975.
- [103]-J.W.Elnax,H.W.Zwanzier,S.Geib,"Chemometrics in Enviromental  
Analysis" ,VCH,Federal Republic of Geometry,1997.

- [104]-B.R.Kowalski,K.R.Beebe, Anal.Chem,9(1987)1007A.
- [105]-E.V.Thomas, Anal.Chem,66(1994)795A.
- [106]-T.C.OHaver,Anal.Chem,51,(1979)91A.
- [107]-A.Savitsky,M.Golay, Anal.Chem,36,1624A,1964
- [108]-A.Bobrowaski, Eleetroanalysis,8(1996)79.
- [109]-C.Clombo, G.M.G.Vadenberg, Anal.Chem.Acta,337(1997)29.
- [110]-A.Massart "Handbookof chemometrics and Qualimetrics", PartA,  
Elsevier. Science, Amsterdam (1997)PP:368.
- [111]-Motto,www.Wegsch, eider, Anal.Chem, 51(1985)63.
- [112]-D.M.Haaland,R.G.Easterling,D.A.Vopicka, Appl.Spectrosc.39 (1983) 73.
- [113]-M.A.Maris,C.W.Brown,D.S.Lavery, Anal.Chem.55(1983)1694.
- [114]-I.D.Meras, A.M.Pena,A.E.Mansilla, F.Salinas,Analyst.118(1993)807.
- [115]-M. Banco, J.Coello, H. Itourriage, S. Maspoch.J. E. Rovina, Talanta,40  
(1993)261.
- [116]-W.Lindberg, J.A.PERSSON. S.Wold, Anal.Chem,55(1983)643.
- [117]-R. D. Baotista, A. I. Jimenez, F. Jimenez, J. J. Arias. Anal.Chem.Acta,  
249(1996)21.
- [118]-J.Havel,C.Moreno, A.Hrdicka,M.Valiente,2<sup>nd</sup> "Scandinavian, Symposium  
on Chemometrics" Bergen,Norway,1999.
- [119]-J.J.Berzas, J.Rodriguea, G.Gastaneda, Anal.Chim 349(1997)303.
- [120]-J.M. Gacia, E.Martin, A.I.Jimenz, F.Jimenez, J.J.Arisa, J.Electroanal.  
Chem.373(1994)235.
- [121]-H.Martense, T.Naes, "Multivariate Calibration" John, Wiley, New

York.1991.

[122]-R.G. Brereton, Analyst, 125(2000)2125.

[123]-H.Hotelling. J.Educ.Psych.24(1933)417.

[124]-R.A.Johnson, D.W.Wichern. "Applied Multivariate Statistical Analysis"  
Prentice-Hall of India. New Dehli 1996.

[125]-K.Person, Philos, Mag. 2(1901)559.

[126]-E.R.Malinowski, D.R.Howery."Factor Analysis in Chemistry", Wiley Inter  
Science, New York 1980.

[127]-D.L.Mssart, P.Lewi, "Principle Components",a videoseries Elsevier  
Amesterdom 1997.

[128]-P.J.Gemperline, A.Salt, J. Chemom. 3(1989)343.

[129]-J.Sum, J.Chemom, 10(1996)1.

[130]-K.G.Joreskog, H.Wold, "System Under Indirect Observation"  
North.Holland, Amesterdam, 1982.

[131]-D.L.Massart,"Handbook of Chemometrics and Qualimetrics" PartB,  
PP:366.

[132]-A.Lorber, L.E.Wangen, B.R.Kowalski, "A.Theoritical Foundation for the  
PLS. Algirythm" . J.Chemometrics 1(1987)PP:19-31.

[133]-H.Martens,T.Neas. "In Near-n Infrared Technology in Agricultural and  
food Industries" Ed –Pc Willisms, K.Wnorris, American Association of  
Cereal Chemists, St. Paul, M.N, 1987, p:57.

[134]-S.Wold,C.Albono,W.J.Dunniit, K.Esbensen, S.Hellberg, E.Johansson,  
Infood Research Data Analysis,ed, H.Martens, H.Russworm, "Applied

Science" Publishers, London (1983)P:147.

[135]-D.M.Haaland, E.V.Thomas, Anal.Chem, 60(1988)1202.

[136]-V.Senter ,D.Massart, O.E.Denord, Anal.Chem,68(1996)3851.

[137]-P.W. Wentzell, D.T.Andrews, B.R.Kowalski, Anal.Chem. 69(1997)2299.

[138]-C.H.Speigelman, M.J.Goets, M.Motamedi, Anal.Chem. 70(1998)35.

[139]-P.Geladi,B.R.Kowalski, Anal.Chem.Acta.185(1986)19.

[140]-A.Lorber,L.E.Wangen, B.R.Kowalski, J.Chemom,1(1987),P:19.

[141]-M.Bos,Q.Jaskin, Anal.Chim.Acta, 103(1978)151.

[142]- عرب چم جنگلی، منصور، اندازه گیری همزمان کبالت و مس و نیکل با استفاده از روش کالیبراسیون چند متغیره حداقل مربعات جزئی و گزارش علمی سال **1383**.

[**143**]- A.Afkhami, M.Bahram, Talanta,66(2005)712-720

[**144**]-M.Toribio,G.F.Garcia, A.Izquierdo-Ridorsa, R.Tauler, G.Rauret, Anal. Chim. Acta, 310(1995),P:297.

[145]-M.E.Ketterer, J.J.Reschl, M.J.Peters, Anal. Chem.61(1989),P:2031.

[146]-I.R.Epstan, K.Kustin, R.H.Simoyi, J.Pys. Chem.96,(1992),PP:6326-6331.

[147]-E.B.Sandell, H.Onoshi, Photometric Determination of Traces of Metal, 3,(1977), PP:481-483.

