



دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال هفتم، شماره‌ی ۲۸
پاییز ۱۳۹۵، صفحات ۵۲-۴۵

استفاده از روش کالیبراسون چند متغیره (کم‌ترین مربعات معکوس) در اندازه‌گیری طیف سنجی هم‌زمان سولفادیازین و تری متوپریم در محصولات لبنی

نیلوفر پناهپوری

گروه شیمی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

nilofar.panahpouri@gmail.com

رضا حاجیان

گروه شیمی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

rezahajian2002@yahoo.co.uk

چکیده

تری متوپریم یک آنتی بیوتیک باکتریواستاتیک وسیع الطیف است که در درمان عفونت‌ها بخصوص عفونت‌های ادراری مصرف دارد. در مقابل سولفادیازین در درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی مانند، عفونت دستگاه ادراری، عفونت گوش کاربرد دارد. ترکیب تری متوپریم و سولفا دیازین به صورت سینرژسم عمل نموده و معمولاً اثر باکتری کشی علیه بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارد. در روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS) ۸۱ مخلوط دو جزئی در ۹ سطح مختلف در دامنه غلظتی ۰/۵ الی ۹۰ میکرومولار ساخته شد. طیف‌های ۸۱ نمونه در دامنه طول موجی ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر ثبت و جهت سری کالیبراسیون و سری پیشگویی مورد استفاده قرار گرفتند. هم‌چنین (RMSE) محاسبه شده در روش کم‌ترین مربعات معکوس برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری متوپریم به ترتیب برابر است با ۳/۷۹ و ۱/۷۱ و ضریب همبستگی در این روش (کم‌ترین مربعات معکوس) برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری متوپریم به ترتیب ۰/۹۸۱۵ و ۰/۹۸۹۳ محاسبه گردید. هم‌چنین حد تشخیص برای سولفادیازین و تری متوپریم به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۹۱ محاسبه گردید. این روش تکرارپذیری خوبی با درصد انحراف استانداردهای نسبی ۱/۳۴٪ الی ۵/۶۸٪ برای سولفادیازین و ۰/۲۱۵٪ الی ۴/۹۵٪ برای تری متوپریم داشت. روش کم‌ترین مربعات معکوس برای اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری متوپریم در نمونه شیر خوراکی با سطح اطمینان ۹۹/۹٪ به کار گرفته شد. توافق رضایت بخش بین نتایج محاسبه شده و مقادیر واقعی، نشان‌گر قابلیت موفقیت روش کم‌ترین مربعات معکوس برای اندازه‌گیری سولفادیازین و تری متوپریم در حضور یکدیگر در نمونه حقیقی بوده است.

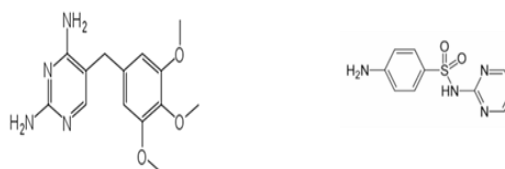
کلید واژه: سولفادیازین، تری متوپریم، کم‌ترین مربعات معکوس، محصولات لبنی.

مقدمه

عدم توجه به رعایت فاصله زمانی لازم بین زمان استفاده از آنتی بیوتیک و تحویل شیر دوشیده شده به مراکز جمع آوری و کارخانجات، مهم‌ترین عامل در باقی ماندن آنتی بیوتیک در شیر است. آنتی بیوتیک‌هایی که به طور معمول جهت درمان استفاده می‌شوند، ممکن است منجر به گسترش مقاومت‌های باکتریایی گردند. اغلب آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در دام با آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در انسان مشترک هستند. بنابراین انتقال مقاومت-های باکتریایی از طریق فرآورده‌های حیوانی امکانپذیر می‌باشد. با توجه به کاهش کارایی آنتی بیوتیک‌ها در پزشکی و دامپزشکی شواهد روزافزونی وجود دارد که نشان می‌دهد یکی از دلایل مهم بروز مقاومت‌های میکروبی در انسان، مرتبط با استفاده از ترکیبات ضد میکروبی در حیوان است که وارد بدن انسان می‌شود. یکی از مهم‌ترین باکتری‌های پاتوژن و شاخص آلودگی در فرآورده‌های لبنی، باکتری اشرشیا کلی می‌باشد. مطالعات جدید نشان می‌دهد که اشرشیا کلی جدا شده از انسان مهم‌ترین پاتوژنی است که افزایش مقاومت آنتی بیوتیک‌ها را نسبت به اغلب داروهای ضد میکروبی خصوصاً آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف مثل آمپی سیلین نشان می‌دهد. در سال‌های اخیر مقاومت‌های آنتی بیوتیکی پاتوژن‌های مولد اسهال در جهان به آستانه خطر رسیده است. با توجه به وجود شواهد کافی مبنی بر انتقال اشرشیاکلی‌های مقاوم از فرآورده‌های حیوانی به انسان و تشابه مقاومت‌های آنتی بیوتیکی اشرشیاکلی‌های جدا شده از فرآورده‌های حیوانی و عفونت‌های انسانی محدودیت تجویز آنتی بیوتیک‌ها ضروری می‌باشد. با توجه به گسترش مقاومت‌های میکروبی و نمود بیش‌تر بیمارهای عفونی، هر چند توسعه آنتی بیوتیک‌های جدید ممکن است در کوتاه مدت مشکل مقاومت‌های میکروبی را حل نماید، ولی تلاش‌ها بایستی بر آموزش سلامت و جلوگیری از بیماری-ها متمرکز گردد. همچنین آموزش‌های لازم در خصوص

سولفادیازین یک باکتریواستاتیک می‌باشد که با ازکار انداختن سنتز اسید فولیک لازم برای اسید نوکلئیک اثرگذار خواهد بود و در صورت مصرف هم‌زمان آن با داروی تری متوپریم منجر به بروز اثرات سود بخش و ضد باکتریایی خواهد شد. در آزمایشگاه‌ها در برابر گستره‌ای از باکتری‌های گرم مثبت نظیر گونه‌های استرپتوکوک و استافیلوکوک و نیز گستره‌ای از باکتری‌های گرم منفی نظیر گونه‌های پروتوس و فوزوباکتری موثر می‌باشد. تری متوپریم اغلب به همراه سولفامتوکسازول به نام کوتریموکسازول به کار می‌رود و در عفونت‌های ادراری و تنفسی مصرف دارد شکل ۱. الف [۱].

تری متوپریم به داروهای گروه‌های شیمی درمانی به نام بازدارنده‌های ردوکتازی هیدرو فولات تعلق دارد. تری متوپریم با تداخل در عملکرد آنزیم دی هیدروفولات ردوکتاز باکتری‌ها ساخت اسید تراهایدروفولیک را مهار می‌کند. تراهایدروفولیک اسید در ساخت تیمیدین و DNA ضروری می‌باشد شکل ۱. ب [۲].



شکل ۱: فرمول ساختاری سولفادیازین (الف) و تری متوپریم (ب).

امروزه مصرف آنتی بیوتیک‌های متنوع در دامپزشکی برای درمان انواع بیماری‌های دامی به خصوص ورم پستان متداول است. اما دامداران بدون رعایت زمان لازم، شیرهای مورد نظر را تحویل مراکز جمع آوری شیرویا کارخانجات می‌دهند که با توجه به این‌که این شیرها در فرآورده‌های تخمیری لبنی نمی‌توانند استفاده شوند عمدتاً در تولید شیر پاستوریزه و استریلیزه خانوار و مدرسه استفاده می‌شوند.

رفتارهایی از نمونه، به منظور رسیدن به وضعیتی که در آن یک قسمت از کمیت‌های فیزیکی قابل اندازه‌گیری تماماً با کمیت‌های شیمیایی مورد نظر وابسته باشد. این دو مورد دقت کالیبراسیون‌های چند متغیره را به طرز قابل توجهی نسبت به کالیبراسیون‌های تک متغیره، افزایش داده است [۴]. روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS)، برداشتی معکوس از قانون بیر می‌باشد. در این روش، فرض می‌شود که غلظت آنالیت، تابعی خطی از جذب بوده و ماتریس غلظت (c) را به روش کم‌ترین مربعات با توجه به ماتریس جذب (A) تخمین می‌زنند. در صورتی که m نمونه استاندارد I جزئی داشته باشیم و طیف هر یک از این نمونه‌ها در n طول موج ثبت شود طبق عکس قانون بیر، رابطه (۱) برقرار است:

$$C=PA+E \quad (1)$$

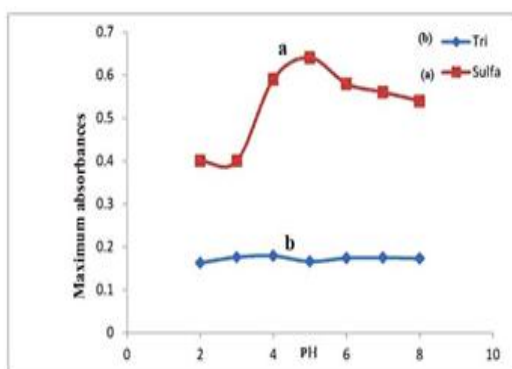
P یک ماتریس $n \times m$ از ضرایب کالیبراسیون است که غلظت L جزء را به جذب آن‌ها ارتباط می‌دهد. E ماتریسی $m \times l$ از خطاها و یا باقی مانده‌های غلظت (تفاوت بین غلظت‌های واقعی و غلظت‌های محاسبه شد) می‌باشد [۵].

مواد و روش‌ها

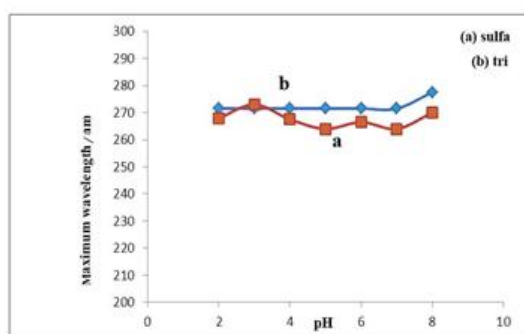
در روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS)، محلول‌های استاندارد با غلظت ۱ میلی‌مولار از هر دو داروی سولفادیازین و تری متوپریم تهیه گردید. مقدار معینی از محلول‌های حاوی سولفادیازین و تری متوپریم به درون یک بالن ۱۰ میلی‌لیتری ریخته شده و سپس یک میلی‌لیتر بافر بریتون- رابینسون (pH=۵) به آن اضافه گردیده و حجم نهایی محلول توسط آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بخشی از محلول فوق درون سل اسپکتروفوتومتری منتقل شده و طیف جذبی محلول در ناحیه طول موجی ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر با فاصله طول موجی ۵/۰ نانومتر ثبت گردید. سپس از طریق روش کم‌ترین مربعات معکوس غلظت دو گونه سولفادیازین و تری متوپریم پیش‌گویی

جلوگیری از تجویز بی رویه آنتی بیوتیک‌ها در مراکز پرورش دام ارائه شود [۳]. از این رو تشخیص و تعیین غلظت داروهای آنتی بیوتیک در فرآورده‌های لبنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روند کلی آنالیزهای شیمیایی به دو مرحله اصلی تقسیم می‌شود. در مرحله اول مقدار یک کمیت فیزیکی یا خصلت شیمیایی که کاملاً به متغیر شیمیایی مورد نظر وابسته است، اندازه‌گیری می‌شود و در مرحله دوم طی فرآیندی به نام کالیبراسیون، مقدار کمیت اندازه‌گیری شده به متغیر شیمیایی مورد نظر ارتباط داده می‌شود. به عبارت دقیق‌تر، با انجام کالیبراسیون، یک یا چندین سری از متغیرها به یکدیگر ارتباط داده می‌شوند. معمولاً یک سری از این متغیرها را پارامترهای حاصل از اندازه‌گیری‌های فیزیکی تشکیل می‌دهند (همانند بخشی از یک طیف) و سایر سری‌ها شامل یک یا چندین پارامتر از قبیل غلظت اجزا یا فعالیت‌های بیولوژیکی می‌باشند. بنابراین، کالیبراسیون امکان پیش‌بینی غلظت ترکیبات موجود در یک مخلوط طیفی یا خواص ماده‌ای با پارامترهای ساختاری معلوم را ممکن می‌سازد. هدف آنالیز رگرسیون در کالیبراسیون خطی، به‌دست آوردن پارامترهای ارتباط (شیب و عرض از مبدا) می‌باشد. طبعاً خطای تعیین این پارامترها نقش مهمی در دقت نتایج پیش‌بینی شده به وسیله مدل کالیبراسیون خواهد داشت. بنابراین، یکی از اهداف اصلی همه روش‌های کالیبراسیون کاهش میزان انحراف مقادیر پیش‌بینی شده از خط رگرسیون است. امروزه با استفاده از روش‌های تجزیه‌ای جدید، امکان جمع‌آوری داده‌های حاصل از اجزای یک نمونه واحد به راحتی فراهم گشته است. داده‌های حاصل از چنین روش‌هایی که در آن‌ها متغیرهایی متعددی برای هر نمونه اندازه‌گیری می‌شود را داده‌های چند متغیره می‌نامند. در کالیبراسیون چند متغیره با تعداد زیادی کمیت فیزیکی (پیش‌بینی کننده‌ها)، مقدار کمیت شیمیایی (پاسخ) را با دو هدف تخمین می‌زنند. اولاً برای پیش‌بینی پاسخ با کم‌ترین واریانس و ثانياً برای حذف (به صورت جزئی یا کامل)

رابینسون در گستره pH ۲ الی ۸ تهیه گردید و سپس طیف‌های جذبی آن‌ها در ناحیه ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر با فاصله طول موجی ۰/۵ نانومتر ثبت گردید. همان‌طور که در شکل ۳ و شکل ۴ مشاهده می‌شود، سولفادیازین دارای ماکزیمم جذبی در pH=۵ بوده در حالی که جذب تری‌متوپریم در طول موج ماکزیمم این دارو وابستگی به pH ندارد. بر این اساس pH=۵ به عنوان pH بهینه جهت اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری‌متوپریم انتخاب گردید.



شکل ۳: منحنی تغییرات جذب ماکزیمم بر حسب pH در دامنه ۲ الی ۸ بافر (بریتون-رابینسون)، سولفادیازین (a) و تری‌متوپریم (b)



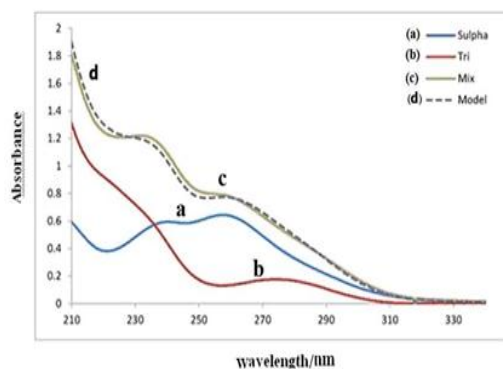
شکل ۴: منحنی تغییرات طول موج ماکزیمم بر حسب pH در دامنه ۲ الی ۸ بافر (بریتون-رابینسون)، سولفادیازین (a) و تری‌متوپریم (b)

– بررسی ضریب همبستگی پیرسون برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری‌متوپریم در روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS)

گردید. روش آزمایشگاهی و جمع‌آوری داده‌ها از طریق دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-Vis) مدل Landa۲۵ و برنامه Matlab و نرم افزار ۲۰۱۰ Excel انجام می‌شود.

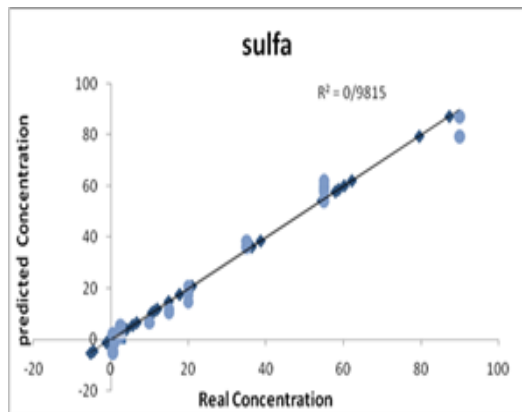
یافته‌ها و بحث

– بررسی هم‌پوشانی طیفی سولفادیازین و تری‌متوپریم
طیف‌های جذبی سولفادیازین و تری‌متوپریم در ناحیه طول موجی ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر با هم هم‌پوشانی داشته و امکان اندازه‌گیری هر دو گونه در حضور هم امکان‌پذیر نیست. طول موج‌های ماکزیمم سولفا دیازین و تری‌متوپریم به ترتیب ۲۶۰ و ۲۷۵ نانومتر می‌باشد شکل ۲. همان‌گونه که مشاهده می‌شود طیف مخلوط دو گونه با طیف حاصل از جمع جبری انطباق پذیری خوبی داشته که خود نشان‌گر عدم برهم‌کنش بین دو جزء است. بنابراین امکان استفاده از روش‌های کالیبراسیون چند متغیره (کم‌ترین مربعات معکوس) برای اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری‌متوپریم وجود دارد.



شکل ۲: طیف‌های جذبی سولفادیازین (a)، تری‌متوپریم (b)، مخلوط دو دارو (c) و مدل (d) در ناحیه طول موجی ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر، طیف مخلوط دو جزء با طیف حاصل از مدل ریاضی انطباق پذیر است

– بررسی اثر pH در میزان جذب و هم‌پوشانی طیفی
به‌منظور بررسی اثر pH بر حساسیت جذبی دو داروی سولفادیازین و تری‌متوپریم، محلول‌هایی از دو گونه فوق به‌طور مجزا در غلظت ۱۰۰ میکرومولار حاوی بافر بریتون-



شکل ۶: نمودار همبستگی بین غلظت‌های پیش‌گویی شده و واقعی سولفادیازین در سری پیش‌گویی در روش (ILS)

- محاسبه (RMSE) برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری متوپریم در روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS)

ناحیه طول موجی مورد استفاده نقش مهمی در انتخاب پذیری روش‌های کالیبراسیون چند متغیره (کم‌ترین مربعات معکوس) دارد بنابراین با استفاده از رابطه (۴)، و با توجه به غلظت‌های پیش‌گویی شده و غلظت‌های واقعی در ناحیه طول موجی ۲۱۰-۳۴۰ نانومتر، ناحیه طول موجی ۲۱۰-۳۴۰ به‌عنوان ناحیه بهینه با مقادیر RMSE به ترتیب ۳/۷۹ و ۱/۷۱ برای سولفادیازین و تری متوپریم محاسبه گردید.

$$RMSE = \left(\frac{(c_i - c_j)^2}{n} \right)^{1/2} \quad (4)$$

C_i غلظت پیش‌گویی، C_j غلظت واقعی و n تعداد نقاط پیش‌گویی می‌باشد.

- تعیین حد تشخیص

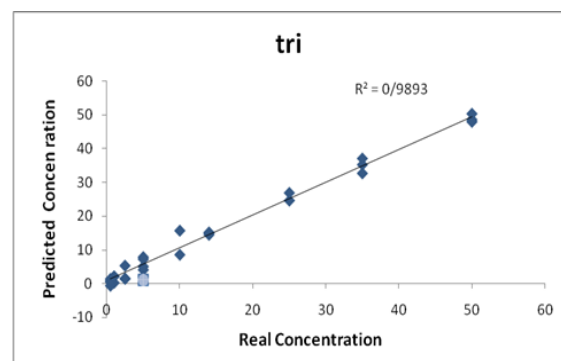
به‌منظور محاسبه حد تشخیص روش کم‌ترین مربعات معکوس در اندازه‌گیری سولفادیازین و تری متوپریم تعداد شش اندازه‌گیری تکراری بر روی محلول شاهد (یک میلی لیتر بافر بریتون- رابینسون با $pH=5$ و ۹ میلی لیتر آب مقطر یون زدایی شده در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری) انجام گرفت

در روش کم‌ترین مربعات معکوس، ۸۱ مخلوط دو جزئی در ۹ سطح مختلف در دامنه غلظتی ۰/۵ الی ۹۰ میکرومولار ساخته شد. طیف‌های ۸۱ نمونه در دامنه طول موجی ۲۱۰ الی ۳۴۰ نانومتر ثبت و جهت سری کالیبراسیون و سری پیش‌گویی مورد استفاده قرار گرفتند. برای به‌دست آوردن ضریب همبستگی پیرسون، برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری متوپریم ابتدا با توجه به طیف ۸۱ مخلوط دو جزئی که در ناحیه ۲۱۰-۳۴۰ گرفته شده بود، ۵۴ مخلوط دو جزئی سولفادیازین و تری متوپریم به طور تصادفی برای سری کالیبراسیون و ۲۷ مخلوط دو جزئی سولفادیازین و تری متوپریم برای پیش‌گویی غلظت انتخاب گردید. با توجه به روابط ۲ و ۳ و نرم افزار مطلب ابتدا ضریب ارتباط (K) و در نهایت غلظت ۲۷ مخلوط دو جزئی سولفادیازین و تری متوپریم محاسبه و پیش‌گویی گردید. نمودار کالیبراسیون بر اساس غلظت‌های پیش‌گویی بر حسب غلظت واقعی رسم گردیده و برای دو جزء تری متوپریم و سولفادیازین به‌طور جداگانه رسم گردید شکل‌های ۵-۶.

$$C = K \times A \quad (2)$$

C ماتریکس غلظت مخلوط‌های دو جزئی سولفادیازین و تری متوپریم، K ضریب ارتباط، A ماتریکس طیف‌های مخلوط دو جزئی سولفادیازین و تری متوپریم

$$C_p = K \times A \quad (3)$$



شکل ۵: نمودار همبستگی بین غلظت‌های پیش‌گویی شده و واقعی تری متوپریم در سری پیش‌گویی در روش (ILS)

$$RSD = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 \quad (۸)$$

اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری متوپریم در نمونه شیر خوراکی (پرچرب و کم چرب) به روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS) روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS) برای اندازه‌گیری سولفادیازین و تری متوپریم در نمونه شیر خوراکی (پرچرب و کم چرب) به کار گرفته شد. نتایج حاصل با سطح اطمینان ۹۹/۹٪ در جدول ۲ نشان داده شده است. توافق رضایت بخش بین نتایج محاسبه شده و مقادیر واقعی، نشان‌گر قابلیت موفقیت آمیز روش کم‌ترین مربعات معکوس (ILS) برای اندازه‌گیری سولفادیازین و تری متوپریم در حضور یکدیگر در نمونه حقیقی (شیر خوراکی: پرچرب و کم چرب) بوده است.

و در شرایط بهینه سیستم (pH و ناحیه طول موجی بهینه) طیف‌های جذبی مربوطه ثبت گردید. و سپس غلظت سولفادیازین و تری متوپریم با استفاده از برنامه متلب تعیین و با استفاده از معادلات (۵) و (۶)، با اندازه‌گیری غلظت سولفادیازین و تری متوپریم در محلول‌های شاهد (n=۶) حد تشخیص گونه‌ها بر طبق معادله (۷) برابر ۰/۲۵ و ۰/۹۱ میکرومول بر لیتر به ترتیب برای سولفادیازین و تری متوپریم محاسبه گردید.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdots x_n}{n} \quad (۵)$$

\bar{x} میانگین غلظت‌های اندازه‌گیری شده، x_i مقدار داده‌های پیش‌گویی و n تعداد داده‌ها آماری می‌باشند.

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (۶)$$

s_b انحراف استاندارد شاهد، x_i مقدار داده پیش‌گویی و n تعداد داده‌های آماری می‌باشند.

$$C_{DL} = 3s_b + \bar{x} \quad (۷)$$

C_{DL} غلظت حد تشخیص، s_b انحراف استاندارد شاهد، \bar{x} میانگین غلظت‌های اندازه‌گیری شده

- تکرارپذیری

به‌منظور مطالعه تکرارپذیری روش کم‌ترین مربعات معکوس برای اندازه‌گیری هم‌زمان دو جزء دارویی سولفادیازین و تری متوپریم تعدادی نمونه ساختگی محتوی هر دو جز سولفادیازین و تری متوپریم به‌وسیله این روش مورد آنالیز قرار گرفتند.

با توجه به معادلات (۵)، (۶)، (۷) و (۸) و همان‌طور که نتایج به‌صورت فاصله اطمینان و در سطح اطمینان ۹۹/۹٪ در جدول (۱) آورده شده است، درصد انحراف استانداردهای نسبی ۱/۳۴٪ الی ۵/۶۸٪ برای داروی سولفادیازین و ۲/۱۵٪ الی ۴/۹۵٪ برای داروی تری متوپریم تعیین گردید.

جدول ۱- نتایج حاصل از اندازه گیری های تکراری برای تعیین سولفادیازین و تری متوپریم در حضور مخلوط های ساختگی

نمونه	مقدار اضافه شده (μmol/L)		مقدار اندازه گیری شده (μmol/L)		RSD(%)	
	SDZ	TMP	SDZ	TMP	SDZ	TMP
۱	۸۰	۸۰	۶۱/۲۱ ± ۷/۸۷	۸۴/۵۵ ± ۵/۰۱	۴/۷۳	۲/۱۵
۲	۵۰	۵۰	۳۶/۹۶ ± ۵/۶۳	۵۳/۰۷ ± ۴/۴۵	۵/۶۸	۳/۰۰۴
۳	۸۰	۲۰	۶۳/۶۲ ± ۲/۳۸	۲۱/۴۹ ± ۲/۹۷	۱/۳۴	۴/۹۵

جدول ۲- نتایج حاصل از اندازه گیری سولفادیازین و تری متوپریم در نمونه حقیقی، شیر خوراکی (پرچرب و کم چرب) نتایج برای سه اندازه گیری و به صورت

$$\bar{x} \pm (t.S) / \sqrt{N}$$

ارائه شده است

(μmol/L) مقدار اضافه شده			مقدار اندازه گیری شده (μmol/L)		RSD(%)		راندمان	
SD Z	TMP		SDZ	TMP	SDZ	TMP	SDZ	TMP
---	---	۱- شیر کم چرب	۰/۴۱ ± ۷/۶۷	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۸۴/۴۸	۰/۰۰	--	--
		۲- شیر پرچرب	۴/۳۸ ± ۷/۱۲	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۸/۹۹	۰/۰۰	--	--
۵۰	۵۰	۱- شیر کم چرب	۴۲/۲۲ ± ۲۳۴/۹۰	۴۰/۸۳ ± ۱۳۵/۵۳	۳۰/۴۶	۱۸/۱۷	۸۳/۴۴	۸۱/۶۶
		۲- شیر پرچرب	۴۱/۶۱ ± ۳۵۴/۳۶	۴۰/۸۴ ± ۲۱۶/۴۵	۴۶/۵۳	۲۹/۰۱	۷۴/۶۳	۸۱/۶۸
۲۰	۲۰	۱- شیر کم چرب	۲۱/۵۹ ± ۸/۲۲	۲۲/۵۶ ± ۶/۲۱	۲/۱۰	۱/۵۰	۱۰۵/۴۴	۱۱۲/۸۱
		۲- شیر پرچرب	۱۷/۸۶ ± ۶/۲۱	۲۲/۶۹ ± ۱۶/۲۵	۱/۹۱	۳/۹۳	۶۷/۳۷	۱۱۳/۴۵

نتیجه‌گیری

در کار تحقیقاتی ارائه شده روش‌های کالیبراسیون چند متغیره (کم‌ترین مربعات معکوس) استفاده گردیده و دو ترکیب دارویی سولفادیازین و تری‌متوپریم در حضور یکدیگر به‌طور هم‌زمان مورد سنجش قرار گرفته‌اند. طول موج‌های ماکزیمم سولفادیازین و تری‌متوپریم به ترتیب ۲۶۰ نانومتر و ۲۷۵ نانومتر می‌باشد و امکان اندازه‌گیری آن‌ها به‌طور مستقیم امکان پذیر نیست. در همه اندازه‌گیری‌ها $pH=5$ به‌عنوان pH بهینه جهت اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری‌متوپریم انتخاب گردید. هم‌چنین (RMSE) محاسبه شده در روش کم‌ترین مربعات معکوس برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری‌متوپریم به ترتیب برابر با ۳/۷۹ و ۱/۷۱ و ضریب همبستگی در این روش برای مخلوط دو گونه سولفادیازین و تری‌متوپریم به ترتیب ۰/۹۸۱۵ و ۰/۹۸۹۳ محاسبه گردید. هم‌چنین حد تشخیص برای سولفادیازین و تری‌متوپریم به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۹۱ محاسبه گردید. این روش تکرار پذیری خوبی با درصد انحراف استاندارد‌های نسبی ۱/۳۴٪ الی ۵/۶۸٪ برای سولفادیازین و ۰/۲/۱۵٪ الی ۴/۹۵٪ برای تری‌متوپریم داشت. روش کم‌ترین مربعات معکوس برای اندازه‌گیری هم‌زمان سولفادیازین و تری‌متوپریم در نمونه شیرخوراکی (پرچرب و کم‌چرب) با سطح اطمینان ۹۹/۹٪ به‌کار گرفته شد. توافق رضایت بخش بین نتایج محاسبه شده و مقادیر واقعی، نشان‌گر قابلیت موفقیت روش کم‌ترین مربعات معکوس برای اندازه‌گیری سولفادیازین و تری‌متوپریم در حضور یکدیگر در نمونه حقیقی بوده است.

تقدیر و تشکر

محققان این پروژه از بخش پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران به‌دلیل فراهم آوردن امکانات لازم در اجرایی شدن این طرح کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

[۱] Goodman & Gilman's., 1980, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11 Th Ed. Macmillan., New York., pp: 1116-1119.

[۲] American Academy of Pediatrics., The Transfer of Drugs and other Chemicals into Human Milk pediatric, 108: 776-789 (2001).

[۳] محمدزاده مقدم، م؛ نجار، ع؛ ۱۳۹۰، مدیریت غذا و دارو، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

[۴] Ziegel, Eric R., 2004, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Technometrics, 46.4: 498-499.

[۵] McCallum, John J., 1989, Piezoelectric devices for mass and chemical measurements an update, A review Analyst, 114.10: 1173-1189.