

5. Statistika

Doc. RNDr. Luděk Jančář, CSc.

jancar@ped.muni.cz

5.1. Chyby

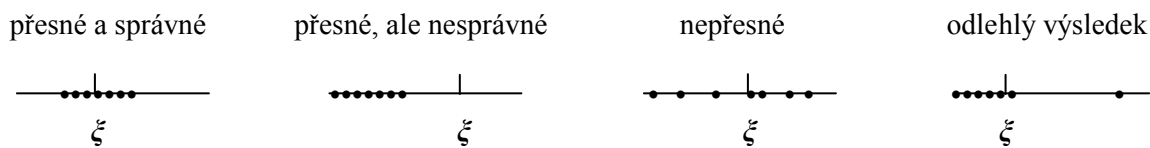
Při měření analytického signálu vznikají chyby, jejichž příčiny mnohdy ani nemůže zjistit (chyby **objektivní**) nebo chyby, které jsou způsobeny samotným experimentátorem (chyby **subjektivní**).

Podle toho, jak se chyby měření (stanovení) ve vyhodnocených výsledcích projevují, je v analytické chemii (chemometrii) dělíme na **náhodné**, **soustavné** a **hrubé**. Při výpočtu mohou pak vznikat i chyby **zaokrouhlovací** a chyby **modelu**.

1. Chyby **náhodné** (statistické), jimiž je zatíženo každé měření, nebývají příliš velké, jsou nepravidelné, a proto nezkrslují výsledek proti skutečné hodnotě, pouze způsobují, že se výsledky paralelních stanovení poněkud liší. Jsou to chyby vyvolané nepatrnými změnami teploty, tlaku, přítomností rušivých vibrací atd. Mají objektivní charakter.
2. Chyby **soustavné** (systematické) mají stálý charakter a zkrslují výsledky vždy v určitém směru, takže metoda jimi zatížená poskytuje vždy výsledky soustavně vyšší nebo nižší. Někdy je dělíme na chyby **metodické**, **přístrojové** a chyby **ostatní**. Vznikají volbou nevhodné metody stanovení, z nedokonalého průběhu chemické reakce, nesprávně nastaveného přístroje, nedokonalosti kalibrace, omylem zvolené pipety o jiném objemu než předepsaném pro celou sérii měření atd. Většinou je možné tyto chyby zjistit a odstranit. Mají objektivní i subjektivní charakter.
3. Chyby **hrubé** vznikají nejčastěji omylem nebo malou pečlivostí pracovníka, který analýzu prováděl, např. omylem zvolené pipety o jiném objemu než předepsaném pro jedno měření z dané série. Musí být ze souborů dat odstraněny vyloučením vadných dat nebo novým přeměřením atd. Mají subjektivní i objektivní charakter.
4. Chyby **zaokrouhlovací** vznikají při výpočtech. Často se však kompenzují mezi sebou, příp. s chybami měření, takže je někdy zahrnujeme mezi chyby náhodné.
5. Chyby **modelu** (matematického) se projevují tím, že dostáváme zcela chybné výsledky, proto je někdy zahrnujeme mezi chyby hrubé. Vznikají při předpokladu špatného modelu, např. nesprávně stanovený počet komponent v systému atd.

Pokud v sérii měření (stanovení) vznikají pouze **náhodné chyby** (jednotlivé výsledky se vzájemně dobře shodují), výsledky jsou **přesné** a **správné**, jsou tedy **spolehlivé**. Přesné výsledky však nemusí být vždy současně správné, mohou se od správného výsledku lišit o hodnotu **soustavné chyby**. Příčinu této chyby je třeba odhalit a postup analýzy upravit tak, aby v opakovaném měření byly výsledky přesné a správné. Výsledky nepřesné jsou analyticky nepoužitelné. Ojedinelý výsledek, který se od ostatních významně liší, se označuje jako **odlehlý**, zatížený **hrubou chybou** (viz obrázek 5.1-1).

Obrázek 5.1-1
Hodnocení výsledků



U souborů výsledků stanovení (naměřených dat) rozlišujeme 4 základní pojmy:

1. **Přesnost** je míra rozptýlení hodnot okolo střední (průměrné) hodnoty.
2. **Správnost** představuje rozdíl mezi skutečnou hodnotou ξ a vypočtenou (naměřenou) hodnotou x .
3. **Opakovatelnost** je přesnost stanovení daným pracovníkem na daném pracovišti vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou.
4. **Reprodukovatelnost** je přesnost stanovení pro různé pracovníky z různých pracovišť vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou.

Chyba je vždy ukazatelem nesouladu mezi výsledkem stanovení (měření) a skutečným obsahem (hodnotou měřené veličiny) sledované složky ve vzorku. Vyjadřuje se jako **chyba absolutní** nebo **chyba relativní**.

Absolutní (prostá) **chyba** d_i je definována jako rozdíl mezi nalezeným výsledkem x_i a skutečnou hodnotou ξ :

$$d_i = x_i - \xi \quad (5.1-1)$$

a může být kladnou nebo zápornou veličinou a má vždy rozměr.

Často se také udává její absolutní hodnota:

$$d_i = |x_i - \xi| \quad (5.1-2)$$

Relativní (poměrná) **chyba** e_i je vztažena ke skutečné (správné) hodnotě, je tedy **mírou správnosti**. Je veličinou bezrozměrnou.

$$e_i = \frac{d_i}{\xi} = \frac{x_i - \xi}{\xi} \quad (5.1-3)$$

Často se udává také její absolutní hodnota:

$$e_i = \frac{|x_i - \xi|}{\xi} \quad (5.1-4)$$

Obvykle však relativní chybu uvádíme v procentech:

$$e_{i\%} = e_i \cdot 100 \quad [\%] \quad (5.1-5)$$

Skutečná (správná) hodnota ξ však nebývá v chemických analýzách známa, a proto ji nahrazujeme aritmetickým průměrem.

Aritmetický průměr \bar{x} se vypočítává z jednotlivých výsledků stanovení (měření) x_i a zaokrouhlí se na stejný počet míst, jaký mají jednotlivé výsledky:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (5.1-6)$$

n počet paralelních stanovení (měření).

Pokud ke skutečné hodnotě vztahujeme aritmetický průměr \bar{x} , hovoříme o **relativní chybě** vztažené k **průměru**:

$$\varepsilon_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\bar{x}} \quad (5.1-7)$$

5.1.1. Náhodné chyby

Náhodné chyby vznikají při každém měření a ovlivňují tedy přesnost výsledků. Jsou způsobeny drobnými nepřesnostmi při vážení nebo měření, nedokonalostí odečítání sledované veličiny atd. Mají nepravidelný charakter s tendencí vzájemné kompenzace, jsou zpravidla malé a jejich příčina není zcela známa.

Rozdělení náhodných chyb, tj. závislost pravděpodobnosti výskytu chyb na jejich absolutní velikosti $|x_i - \xi|$, charakterizuje v numerickém i grafickém vyjádření **Gaussova** rovnice (křivka) **normálního rozdělení**, která má dva parametry μ a σ :

$$y = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{x - \mu}{\sigma} \right)^2} \quad (5.1-8)$$

Parametr μ určuje polohu maxima křivky vzhledem k vodorovné ose a parametr σ vystihuje šířku křivky, tj. rozptýlení. Čím je rozptýlení menší, tím je křivka užší, symetričtější s velkou četností správných dat, tj. s minimální chybou – hodnocený soubor je přesnější.

Nejlepším odhadem parametru μ je aritmetický průměr \bar{x} (viz vztah 5.1-6), parametru σ je směrodatná (standardní) odchylka s .

Odhad směrodatné odchylky s od průměru je **měřítkem přesnosti** získaných výsledků stanovení. Při dostatečně velkém počtu paralelních stanovení ($n \geq 10$) se vypočítá ze vztahu:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.1-9)$$

Rozdíl naměřené hodnoty od průměru ($x_i - \bar{x}$) je tzv. **odchylka** jednotlivého výsledku, druhá mocnina směrodatné odchylky se nazývá **rozptyl** (variance) v :

$$v = s^2 \quad (5.1-10)$$

Je-li počet stanovení (měření) $n < 10$, počítáme odhad parametru σ pomocí **rozpětí** R a značíme ho s_R :

$$R = x_{max} - x_{min} \quad (5.1-11)$$

$$s_R = k_n \cdot R \quad (5.1-12)$$

k_n Dean-Dixonův koeficient udávaný v tabulkách (viz tabulka 3).

Hodnotu s , resp. s_R uvádíme zpravidla na tolik platných míst, kolik jich má výsledek, resp. o jedno místo přesněji.

Protože hodnota s závisí také na velikosti stanovované veličiny, charakterizuje se v praxi **opakovatelnost stanovení** (měření) nejčastěji **relativní směrodatnou odchylkou** s_r , resp. $s_{r,R}$:

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (5.1-13)$$

resp.

$$s_{r,R} = \frac{s_R}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (5.1-14)$$

Odhad směrodatné odchylky s (s_R) a stejně i relativní směrodatná odchylka s_r ($s_{r,R}$) budou tím menší, čím přesnější budou výsledky stanovení (měření) a tím také bude daná metoda stanovení přesnější. Pro danou analytickou metodu je tedy relativní směrodatná odchylka určitou veličinou (měřítkem), která charakterizuje její opakovatelnost (popř. reprodukovatelnost).

Mírou přesnosti aritmetického průměru je **směrodatná odchylka průměru** $s_{\bar{x}}$, resp. $s_{\bar{x},R}$:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5.1-15)$$

resp.

$$s_{\bar{x},R} = \frac{s_R}{\sqrt{n}} \quad (\text{viz tabulka 3}) \quad (5.1-16)$$

Ze vztahů (5.1-15) a (5.1-16) vyplývá, že s nárůstem počtu měření se zvyšuje přesnost stanovení (hodnota $s_{\bar{x}}$, resp. $s_{\bar{x},R}$ se snižuje).

U většiny hodnocených sérií měření (stanovení) neznáme skutečnou hodnotu ζ . Na základě matematické statistiky lze však vymežit oblast, v níž se s určitou pravděpodobností (na předem zvolené hladině významnosti α) skutečná hodnota nachází ($\alpha = 0,05$ – **95% pravděpodobnost** nebo $\alpha = 0,01$ – **99% pravděpodobnost**).

Tato oblast – **interval spolehlivosti** $L_{1,2}$ – je užší, čím jsou získané výsledky přesnější a charakterizuje spolehlivost výsledků.

První způsob výpočtu intervalu spolehlivosti využívá **Studentova** rozdělení:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm \frac{s \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}} \quad (5.1-17)$$

L_1 a L_2 krajní meze (horní a dolní) intervalu spolehlivosti,
 t_{α} kritická hodnota Studentova rozdělení pro zvolenou hladinu významnosti α
 (viz tabulka 4).

Druhý způsob navržený **Dean-Dixonem** pro malé soubory ($n < 10$), využívá **Lordova** rozdělení:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm K_{n,\alpha} \cdot R \quad (5.1-18)$$

$K_{n,\alpha}$ kritická hodnota Lordova rozdělení pro zvolenou hladinu významnosti α
 (viz tabulka 4).

5.1.2. Soustavné chyby

Aritmetický průměr výsledků série stanovení (měření) je správný, pokud jeho rozdíl od skutečné hodnoty $\bar{x} - \xi$ s určitou pravděpodobností (na zvolené hladině významnosti α) není statisticky významný. Skutečnou hodnotu ξ obvykle neznáme a tedy ji nahrazujeme konvenčně správnou hodnotou (tzv. „analytické standardy“, „normály“ nebo „etalonové referenční materiály“) nebo analýzou vzorku se známými přídatky stanovované složky. Je-li rozdíl aritmetického průměru od skutečné hodnoty malý, lze jej vysvětlit náhodnými chybami, při větším rozdílu je nutno počítat s přítomností soustavné chyby.

5.1.2.1. Testování správnosti výsledků

K testování používáme buď směrodatnou odchylku – **Studentův** t -test správnosti pro $n \geq 10$:

$$t = \frac{|\bar{x} - \xi| \cdot \sqrt{n}}{s} \quad (5.1-19)$$

nebo rozpětí R pro malý počet výsledků ($n < 10$) – **Lordův** u_o -test správnosti:

$$u_o = \frac{|\bar{x} - \xi|}{R} \quad (5.1-20)$$

Vypočtenou hodnotu t nebo u_o srovnáme s kritickou hodnotou t_α nebo K_α (v tabulkách) pro daný počet stanovení a určitou hladinou významnosti α .

Je-li $t < t_\alpha$ nebo $u_o < K_\alpha$, rozdíl $|\bar{x} - \xi|$ je s určitou pravděpodobností způsoben náhodnými chybami a zjištěný výsledek je správný. V opačném případě je výsledek zatížen soustavnou chybou.

5.1.2.2. Testování shodnosti výsledků

Testování shodnosti přichází v úvahu při porovnávání výsledků získaných různými metodami, z různých laboratoří, od různých pracovníků atd. Údaje souborů se vždy od sebe liší a je třeba rozhodnout, který ze souborů obsahuje výsledky nepřesné či nesprávné.

Zda jsou dva soubory výsledků A a B stejně přesné poznáme podle hodnoty poměru rozptylů. K tomu se používá **Snedecorův** F -test, definovaný pouze pro kladné hodnoty:

$$F_A = \frac{s_A^2}{s_B^2} \geq 1 \quad (5.1-21)$$

nebo

$$F_B = \frac{s_B^2}{s_A^2} \geq 1 \quad (5.1-22)$$

Je-li $F_A (F_B) < F_\alpha$, poměr rozptylů je statisticky nevýznamný, rozptyly se liší v rozmezí náhodných chyb. Je-li naopak $F_A (F_B) > F_\alpha$, poměr rozptylů je statisticky významný. Kritické hodnoty F_α (pro zvolenou hladinu významnosti α) je možno najít v tabulkách (viz tabulka 5). Metoda s větším rozptylem poskytuje hůře reprodukovatelné výsledky, což se v důsledcích projeví např. při konstrukci grafů kalibračních závislostí nebo při dalším zpracování výsledků.

Testování **shodnosti výsledků** pro stejný počet stanovení v obou testovaných souborech ($n_A = n_B = n$) se provádí podle zjednodušeného **Studentova t-testu**:

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{n-1}}{\sqrt{s_A^2 + s_B^2}} \quad (5.1-23)$$

nebo **Lordova u-testu** (pro malé počty stanovení v souborech ($n < 10$), nevyžaduje žádné předpoklady o rozptylech):

$$u = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{R_A + R_B} \quad (5.1-24)$$

Je-li $t \geq t_\alpha$, je rozdíl aritmetických průměrů, pro celkový počet stanovení $2n - 1$ a zvolenou hladinu významnosti α , statisticky významný.

Podobně, je-li $u \geq u_\alpha$ (viz tabulka 6), je rozdíl aritmetických průměrů statisticky významný.

Testování shodnosti výsledků pro různý počet paralelních stanovení v obou souborech ($n_A \neq n_B$) je složitější. Používá se **Studentova t-testu**:

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{\sqrt{\frac{s_A^2}{n_A - 1} + \frac{s_B^2}{n_B - 1}}} \quad (5.1-25)$$

nebo pro malé počty měření ($n < 10$) **Moorova U-testu**.

Vypočtenou hodnotu t -testu porovnááme s kritickou hodnotou t_α , kterou určíme podle toho, zda vzájemný poměr rozptylů (podle Snedecorova kritéria) je, či není významný. Je-li poměr rozptylů nevýznamný, hodnota t_α se zjistí z tabulky pro $(n_A + n_B - 1)$.

Moorův U -test je totožný s Lordovým u -testem. Kritické hodnoty t_α , u_α a U_α nalezneme v tabulkách.

5.1.3. Hrubé chyby

Hrubé chyby vznikají v důsledku omylů při provádění analýzy (měření) nebo při vyhodnocení výsledků, mají objektivní i subjektivní charakter. Velká hodnota chyby může způsobit nepřesnost a nesprávnost konečného výsledku, proto je nezbytné odlehly výsledek ze souboru hodnot vyloučit.

Pro jeho vyloučení seřadíme nejprve všechny výsledky podle stoupající hodnoty: $x_1 < x_2 < \dots < x_{n-1} < x_n$.

Odlehlý výsledek (nejnižší nebo nejvyšší ve vytvořené posloupnosti) testujeme dosazením do příslušných vztahů (viz níže) a vypočtená hodnota se porovnává s kritickou, tabelovanou hodnotou, podle statistické významnosti α . Vylučovat lze jen ze tří a více výsledků. K testování používáme **Grubbsův T-test** nebo **Dean-Dixonův Q-test**.

Grubbsův test se používá obvykle při větším počtu paralelních výsledků:

$$T_1 = \frac{\bar{x} - x_1}{S} \quad (5.1-26)$$

nebo

$$T_n = \frac{x_n - \bar{x}}{S} \quad (5.1-27)$$

kde veličina S :

$$S = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.1-28)$$

a lze ji odvodit ze směrodatné odchylky s :

$$S = s \cdot \sqrt{\frac{n-1}{n}} \quad (5.1-29)$$

takže:

$$T_1 = \frac{\bar{x} - x_1}{s} \cdot \sqrt{\frac{n}{n-1}} \quad (5.1-30)$$

nebo

$$T_n = \frac{x_n - \bar{x}}{s} \cdot \sqrt{\frac{n}{n-1}} \quad (5.1-31)$$

Vypočtenou veličinu T_1 nebo T_n porovnáváme s kritickou hodnotou T_α (nalezneme v tabulkách – viz tabulka 2) pro zvolenou hladinu významnosti α . Je-li T_1 (T_n) $\geq T_\alpha$, výsledek je odlehlý a je třeba vyloučit jej ze souboru testovaných hodnot.

Dean-Dixonův test je vhodný obvykle pro soubor s malým počtem ($n < 10$) paralelních stanovení (měření) a místo směrodatné odchylky používá rozpětí R :

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad (5.1-32)$$

nebo

$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (5.1-33)$$

Vypočtenou veličinu Q_1 nebo Q_n porovnáváme s kritickou hodnotou Q_α (nalezneme v tabulkách) pro zvolenou hladinu významnosti α . Je-li Q_1 (Q_n) $\geq Q_\alpha$, výsledek je odlehlý a je třeba vyloučit jej ze souboru testovaných hodnot.

Po vyloučení odlehlého výsledku je vhodné opakovat testování pro novou posloupnost hodnot.

Tabulka 2

Kritické hodnoty T_α a Q_α pro vylučování odlehlých výsledků

Počet stanovení	T_α	T_α	Q_α	Q_α
n	($\alpha = 0,05$)	($\alpha = 0,01$)	($\alpha = 0,05$)	($\alpha = 0,01$)
3	1,412	1,416	0,941	0,988
4	1,689	1,723	0,765	0,889
5	1,869	1,955	0,642	0,760
6	1,996	2,130	0,560	0,698
7	2,093	2,265	0,507	0,637
8	2,172	2,374	0,468	0,590
9	2,237	2,464	0,437	0,555
10	2,294	2,540	0,412	0,527

Tabulka 3

Hodnota koeficientu k_n a $\frac{1}{\sqrt{n}}$

n	k_n	$\frac{1}{\sqrt{n}}$
2	0,8862	0,71
3	0,5908	0,58
4	0,4857	0,50
5	0,4299	0,45
6	0,3946	0,41
7	0,3698	0,38
8	0,3512	0,35
9	0,3367	0,33
10	0,3249	0,32

Tabulka 4

Kritické hodnoty koeficientu K_α a Studentova rozdělení t_α

Počet měření	K_α	K_α	t_α	t_α
n	($\alpha = 0,05$)	($\alpha = 0,01$)	($\alpha = 0,05$)	($\alpha = 0,01$)
2	6,353	31,822	12,706	63,657
3	1,304	3,008	4,303	9,925
4	0,717	1,316	3,182	5,841
5	0,507	0,843	2,776	4,604
6	0,399	0,628	2,571	4,032
7	0,333	0,507	2,447	3,707
8	0,288	0,429	2,365	3,499
9	0,255	0,374	2,306	3,355
10	0,230	0,333	2,262	3,250

Tabulka 5
Kritické hodnoty Snedecorova rozdělení F ($\alpha = 0,05$)

	n_1	n_1	n_1	n_1	n_1
n_2	2	3	4	5	6
2	161,450	199,500	215,710	224,580	230,160
3	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296
4	10,128	9,552	9,277	9,117	9,014
5	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256
6	6,608	5,786	5,410	5,192	5,050
7	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387
8	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972
9	5,318	4,459	4,066	3,838	3,688
10	5,117	4,257	3,863	3,633	3,482
	7	8	9	10	
2	233,990	236,770	238,880	240,540	
3	19,330	19,353	19,371	19,385	
4	8,941	8,887	8,845	8,812	
5	6,163	6,094	6,041	5,999	
6	4,950	4,876	4,818	4,773	
7	4,284	4,207	4,147	4,099	
8	3,866	3,787	3,726	3,677	
9	3,581	3,501	3,438	3,388	
10	3,374	3,293	3,230	3,179	

Tabulka 6
Kritické hodnoty Lordova rozdělení u_α

Počet měření	u_α	u_α
n	($\alpha = 0,05$)	($\alpha = 0,01$)
2	1,714	3,958
3	0,636	1,046
4	0,406	0,618
5	0,306	0,448
6	0,250	0,357
7	0,213	0,300
8	0,186	0,260
9	0,167	0,232
10	0,152	0,210

5.2. Vyhodnocování kalibračních závislostí

5.2.1. Lineární regrese kalibrační závislosti

Kalibrační závislosti (uvedme příklad na spektrofotometrii) představují takové závislosti, kdy hodnotám **nezávisle proměnné** (koncentrace c), s nízkou relativní chybou, odpovídá určité pravděpodobnostní rozdělení **závisle proměnné** (absorbance A), jako relativně méně přesné, náhodné veličiny s obvykle předpokládaným normálním rozdělením a stejnou předpokládanou hodnotou rozptylu v sledovaném intervalu koncentrací. Spektrofotometrické kalibrační závislosti bývají alespoň v určitém intervalu koncentrace analytu **lineární** a splňují **regresní rovnici**:

$$A = a + b \cdot c \quad (5.2-1)$$

Výpočet regresních koeficientů a , b a příslušných směrodatných odchylek (regresní analýza) vychází z podmínky minima sumy čtverců odchylek mezi naměřenými A_i a vypočtenými $A_{vyp,i}$ hodnotami absorbancí:

$$U = \sum_{i=1}^n (A_i - A_{vyp,i})^2 = \sum_{i=1}^n (A_i - a - b \cdot c_i)^2 = \min. \quad (5.2-2)$$

Pro odhady koeficientů a , b regresní rovnice, tj. **směrnice regresní přímky** (regresní koeficient b) a **posunutí** (koeficient a), potom platí vztahy:

$$b = \frac{(\sum_{i=1}^n c_i) \cdot (\sum_{i=1}^n A_i) - n \sum_{i=1}^n c_i A_i}{(\sum_{i=1}^n c_i)^2 - n \sum_{i=1}^n c_i^2} \quad (5.2-3)$$

$$a = \frac{1}{n} \cdot (\sum_{i=1}^n A_i - b \sum_{i=1}^n c_i) \quad (5.2-4)$$

c_i hodnoty koncentrace,

A_i naměřené hodnoty absorbance (celkové či rozdílové) pro dané koncentrace,

n celkový počet hodnot, přičemž každý z paralelních měření se při regresní analýze zpracovává jako nezávislý (jako samostatná dvojice c_i , A_i , ne ve formě průměrů).

Rozptýlení hodnot závisle proměnné kolem regresní přímky (přesnost kalibrace) charakterizuje směrodatná odchylka $s_{y,x}$:

$$s_{y,x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - A_{vyp,i})^2}{n - 2}} \quad (5.2-5)$$

$A_{vyp,i}$ hodnoty absorbance vypočtené z regresní rovnice (ležící na regresní přímce).

Proložení přímkou je tím přesnějším, čím je $s_{y,x}$ bližší 0.

Pro výpočet neznámé koncentrace c_x ve vzorku potom platí:

$$c_x = \frac{A_x - a}{b} \quad (5.2-6)$$

A_x hodnota absorbance neznámého vzorku.

Příklad 5.2-1

Kalibrační závislost byla změřena pro 5 standardních roztoků iontu kovu o koncentracích $1 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$, $3 \cdot 10^{-5}$, $4 \cdot 10^{-5}$ a $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l, pro něž byly naměřeny absorbance 0,11; 0,20; 0,30; 0,42 a 0,50. Jaká je koncentrace iontu kovu v mol/l v neznámém vzorku, byla-li pro tento roztok naměřena absorbance $A = 0,29$?

n	c_i [mol/l]	A_i	$c_i A_i$	c_i^2
1	$1 \cdot 10^{-5}$	0,11	$1,1 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-10}$
2	$2 \cdot 10^{-5}$	0,20	$4,0 \cdot 10^{-6}$	$4,0 \cdot 10^{-10}$
3	$3 \cdot 10^{-5}$	0,30	$9,0 \cdot 10^{-6}$	$9,0 \cdot 10^{-10}$
4	$4 \cdot 10^{-5}$	0,42	$1,68 \cdot 10^{-5}$	$1,6 \cdot 10^{-9}$
5	$5 \cdot 10^{-5}$	0,50	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-9}$
Σ	$1,5 \cdot 10^{-4}$	1,53	$5,59 \cdot 10^{-5}$	$5,5 \cdot 10^{-9}$

$$b = \frac{1,5 \cdot 10^{-4} \cdot 1,53 - 5 \cdot 5,59 \cdot 10^{-5}}{(1,5 \cdot 10^{-4})^2 - 5 \cdot 5,5 \cdot 10^{-9}} = 10\,000$$

$$a = \frac{1,53 - 10\,000 \cdot 1,5 \cdot 10^{-4}}{5} = \frac{0,03}{5} = 0,006$$

Regresní rovnice má tedy tvar:

$$A = 0,006 + 10\,000 \cdot c$$

Neznámý vzorek: $A_x = 0,29$

$$c_x = \frac{0,29 - 0,006}{10\,000} = 2,84 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$$

Výpočty pro sestavení grafu vypočtené regresní (kalibrační) přímky:

1. bod hledané kalibrační přímky:

$$c_1 = 0 \text{ mol/l}, \quad A_1 = 0,006$$

2. bod hledané kalibrační přímky:

$$c_2 = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}, \quad A_2 = 0,006 + 10\,000 \cdot 5 \cdot 10^{-5} = 0,506$$

5.2.2. Metoda standardního přídávku

Metoda standardního přídávku se používá zejména k eliminaci vlivu osnovy vzorku.

Při praktické analýze postupujeme tak, že nejprve změříme absorbanci A_x roztoku vzorku o neznámé koncentraci c_x stanovované látky. K dalšímu roztoku vzorku s týmž obsahem stanovované látky přidáme před doplněním odměrné baňky o objemu (V) po značku určitý objem standardního roztoku ($V_{st,l}$) stanovované látky o známé koncentraci c_{st} .

Potom z Bouguer-Lambert-Beerova zákona platí:

$$A_x = \varepsilon \cdot l \cdot c_x \quad (5.2-7)$$

$$A_{x+st} = \varepsilon \cdot l \cdot (c_x + c_{st}) \quad (5.2-8)$$

kde

$$c_{st} = \frac{V_{st,l} \cdot c_{st}}{V} \quad (5.2-9)$$

Pro výpočet neznámé koncentrace c_x potom platí vztah:

$$c_x = \frac{A_x \cdot c_{st}}{A_{x+st} - A_x} \quad (5.2-10)$$

Při grafické interpretaci metody standardního přídávku vyneseme absorbanci vzorku A_x na osu y (tj. pro koncentraci $c_{st} = 0$ na ose x). Neznámá koncentrace c_x stanovované látky ve vzorku je pak vzdáleností mezi počátkem soustavy souřadnic ($c_{st} = 0$) a úsekem, který vytíná přímková závislost $A_{x+st} = f(c_{st})$ na záporné části osy x.

V praxi připravujeme roztoky s 2 – 5 standardními přídávky. Parametry přímkové závislosti jsou pak řešeny postupem uvedeným v kapitole 5.2.1.

5.2.3. Mez stanovitelnosti, citlivost metody

Mez stanovitelnosti A_{lim} metody se vypočte ze vztahu:

$$A_{lim} = \bar{A}_0 + 10 \cdot s_0 \quad (5.2-11)$$

\bar{A}_0 průměrná hodnota absorbance slepého pokusu (blanku),

s_0 směrodatná odchylka slepého pokusu, vypočtená podle rovnice (5.2-13) pro $n \geq 10$ paralelně naměřených hodnot absorbance slepého pokusu.

Příslušná koncentrační mez stanovitelnosti c_{lim} (pro optickou délku kyvety $l = 1$ cm) je vyjádřena vztahem:

$$c_{lim} = \frac{10 \cdot s_0}{b} \quad [\text{mol.l}^{-1}] \quad (5.2-12)$$

b směrnice kalibrační přímky.

Směrodatná odchylka slepého pokusu s_0 se vypočte ze vztahu:

$$s_0 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_{0,i} - \bar{A}_0)^2}{n-1}} \quad (5.2-13)$$

Poznámka:

*Někdy se v analytické chemii používá staršího pojmu **mez detekce**, která je definována tak, že v rovnicích (5.2-11) a (5.2-12) je 10 nahrazena číslem 3.*

Nejčastěji používanou mírou **citlivosti** metody je směrnice kalibrační závislosti (regresní koeficient) b , která se určuje ze vztahu (5.2-3). Ve spektrofotometrii odpovídá přibližně hodnotě molárního absorpčního koeficientu absorbující formy analytu v jednotce [$\text{l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$] při zadání koncentrace v mol.l^{-1} .

Jinou formou odvozenou od směrnice je **index citlivosti dle Sandella** (SI), udávající koncentraci (ppm), která způsobí změnu absorbance o $\Delta A = 0,001$ jednotky. V úpravě pro $\Delta A = 0,01$ a $l = 1$ cm se vypočte podle vztahu:

$$SI = \frac{10 \cdot M}{b} \quad (5.2-14)$$

M molární hmotnost stanovované formy analytu v g.mol^{-1} .

Literatura

1. JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L.: *Analytická chemie*. Brno: MZLU, 2003. 195 s. ISBN 80-7157-647-6.
2. ECKSCHLAGER, K., HORSÁK, I., KODEJŠ, Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*. Praha: SNTL/ALFA, 1980. 224 s.

Obsah

5. Statistika	1
5.1. Chyby	1
5.1.1. Náhodné chyby	3
5.1.2. Soustavné chyby	5
5.1.2.1. Testování správnosti výsledků	5
5.1.2.2. Testování shodnosti výsledků	5
5.1.3. Hrubé chyby	6
5.2. Vyhodnocování kalibračních závislostí	10
5.2.1. Lineární regrese kalibrační závislosti	10
5.2.2. Metoda standardního přídatku	12
5.2.3. Mez stanovitelnosti, citlivost metody	13
Literatura	13