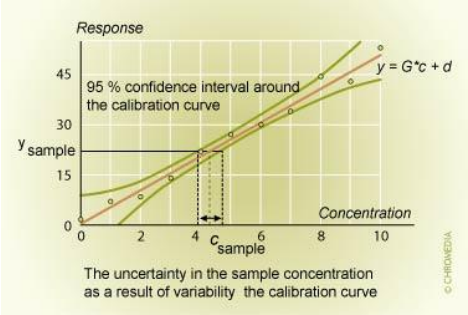
ANALYTICKÁ CHEMOMETRIE

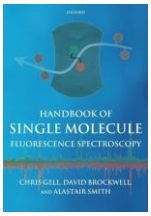
korelace, lineární regrese, kalibrace



Patrik Kania
Ústav analytické chemie, VŠCHT Praha

09. 12. 2025

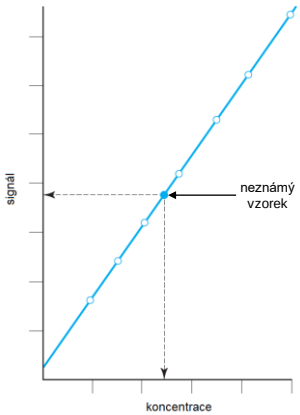
Instrumentální metody



- extrémně citlivé (jednotky molekul)
- široké koncentrační rozpětí
- multianalýza
- automatizace ⇒ pokles nákladů
- snadná kontrola + optimalizace a vyhodnocení

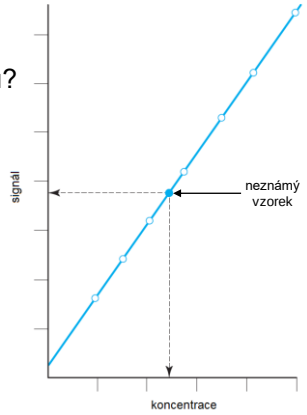
Kalibrace analytické metody

- pomocí série vzorků o známém obsahu
- měření za stejných podmínek
  (neznámý vzorek i standardy)



Otázky při kalibraci:

- je kalibrační závislost přímková?
- jaké je nejlepší proložení experimentálních bodů?
- jsou rozptyly podél kalibrační závislosti stejné?
- jaká je nejistota směrnice a úseku na ose *y*?
- jaká je nejistota koncentrace neznámého vzorku?
- zahrnout slepý pokus do kalibrace?
- jak je to s chybami na jednotlivých osách?



Korelační analýza

Párový (Pearsonův) korelační koeficient (*R* nebo r_{xy} nebo *r*)

- základní mírou lineární (přímkové) korelace

$$r_{xy} = r_{yx} = \frac{cov_{xy}}{s_x \cdot s_y}$$

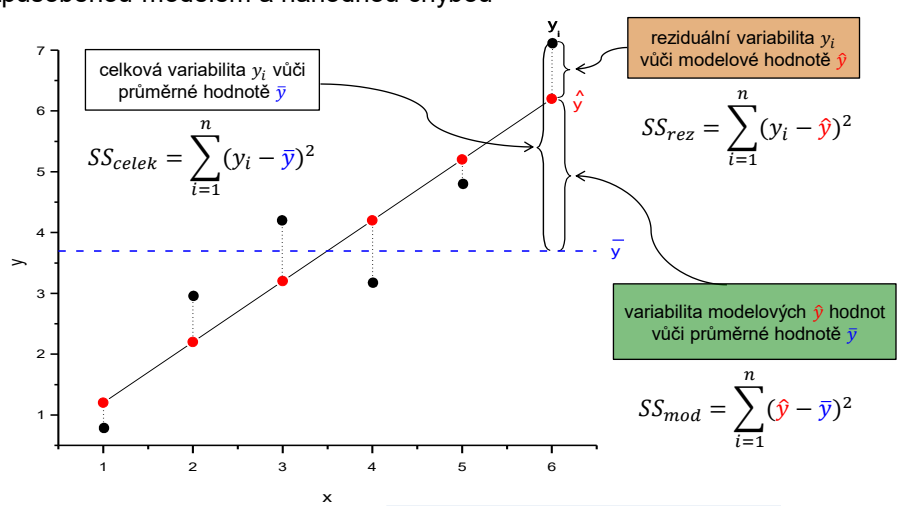
kde kovariance $cov_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{(n-1)}$ měří vzájemnou změnu *x a y*

- korelační koeficient je normovaná kovariance!

$$r_{xy} = r_{yx} = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i}^{n}(x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum_{i}^{n}(y_i - \bar{y})^2}}$$

- nabývá hodnot od -1 (pro zápornou korelaci) do +1 (pro kladnou korelaci)
- hodnota 0 znamená, že mezi posuzovanými veličinami není žádný přímkový vztah
- hodnota 1 nebo -1 indikuje funkční závislost
- mocnina korelačního koeficientu R^2 se nazývá koeficient determinace (od 0 do 1)

Celkovou variabilitu závislé proměnné lze rozdělit na variabilitu způsobenou modelem a náhodnou chybou

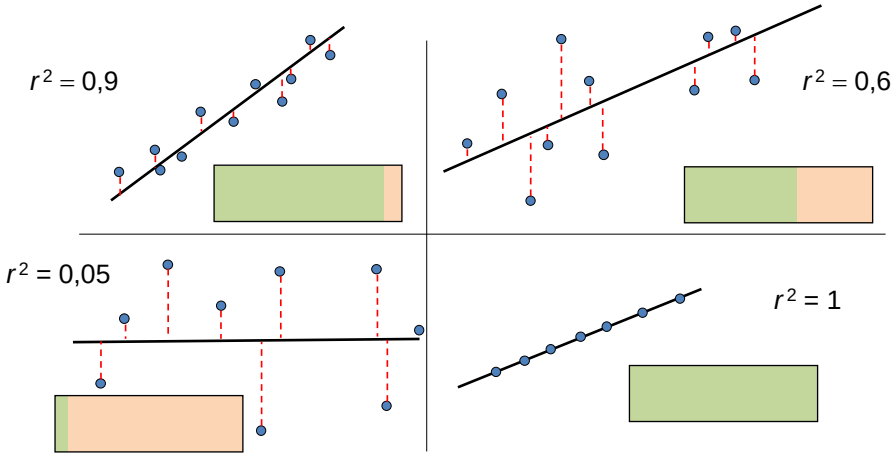


koeficient determinace

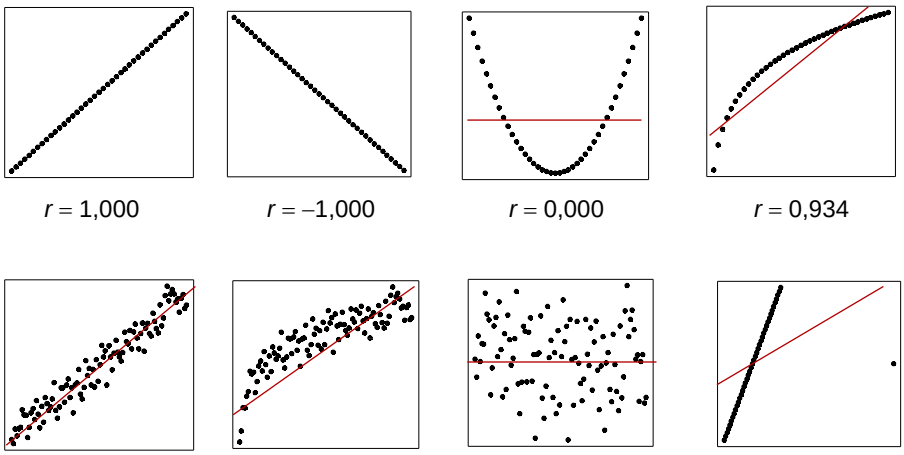
$$r^2 = R^2 = \frac{SS_{mod}}{SS_{celek}} = 1 - \frac{SS_{rez}}{SS_{celek}}$$

Koeficient determinace

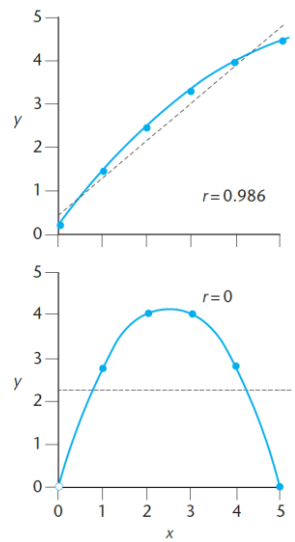
- vyjadřuje, jakou část celkové variability závisle proměnné objasňuje regresní model.



Pearsonův korelační koeficient versus typ závislosti



Pozor na interpretaci korelačního koeficientu!



Statistická významnost korelace

Při jakém *r* je korelace ještě významná?

Testování hypotézy H_0: $r = 0$ H_1: $r \neq 0$

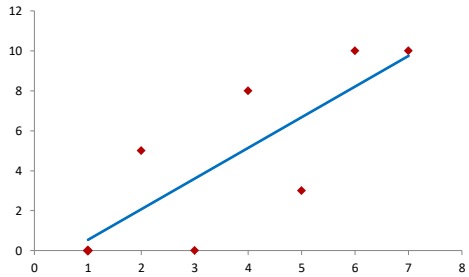
$$TK = t = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}}$$

pokud $TK > t_{(\alpha/2,\, n-2)}$

existuje významná korelace

$t_{(\alpha/2,\, n-2)}$ je oboustranná kritická hodnota Studentova rozdělení pro hladinu významnosti α a $n-2$ stupňů volnosti

Příklad: Kalibrační závislost utvořená na základě 7 experimentálních bodů vykazuje korelační koeficient $r = 0{,}75$. Lze prohlásit tuto závislost za statisticky významně přímkově korelovanou?



$$TK = \frac{|0{,}75|\sqrt{(7-2)}}{\sqrt{1-0{,}75^2}} = 2{,}535$$

$$t_{\mathrm{krit}(0{,}05/2,\,7-2)} = 2{,}571$$

$$2{,}535 < 2{,}571$$

neexistuje významná korelace

Regresní analýza

Regresní analýza

- metoda ke zjištění funkčního vztahu mezi závisle a nezávisle proměnnou

$$y = f(x_j, \beta_p)$$

x_j jsou nezávisle proměnné veličiny, β_p jsou parametry modelu

1. důležitý krok při regresní analýze je volba funkční závislosti

lineární model

$$y = ax^2 + bx + c$$

$$y = b + a/x$$

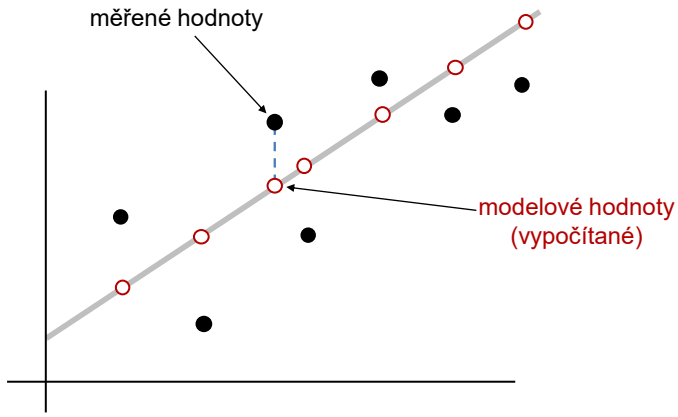
mají lineární postavení parametrů

nelineární model

$$y = ax^b$$

výpočetně složité, ale popisují i složité děje

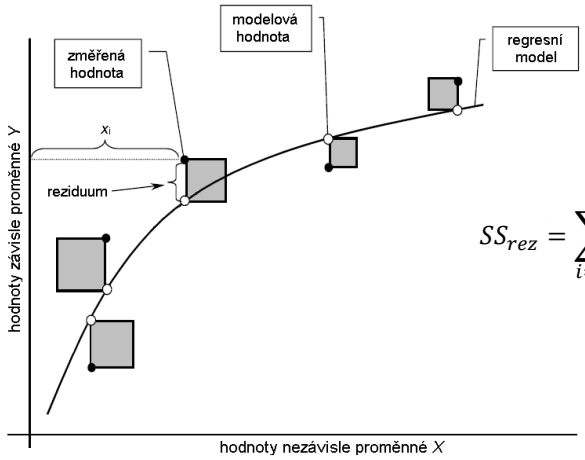
- snaha nahradit každou experimentální hodnotu závisle proměnné modelovou hodnotou



Vždy je nutné modelovat skutečnou příčinnou závislost!

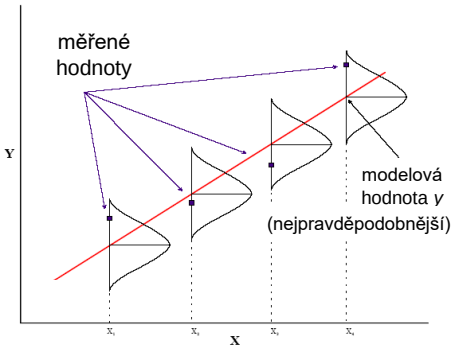
2. důležitý krok při regresi je stanovení parametrů funkční závislosti

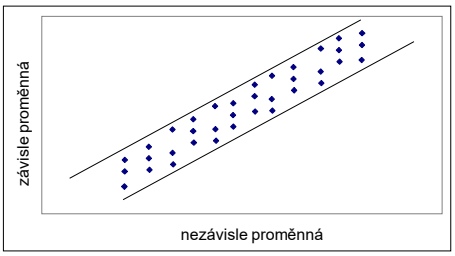
metoda nejmenších čtverců



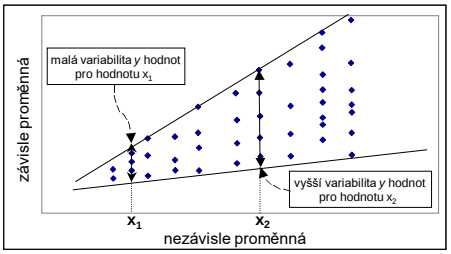
$$SS_{rez} = \sum_{i=1}^{n} (y_i - \hat{y}_i)^2 = min$$

Při použití metody nejmenších čtverců se dále předpokládá konstantní rozptyl *y* hodnot v celém rozsahu *x* hodnot – HOMOSKEDASTICITA





homoskedasticita vs. heteroskedasticita



Tvorba lineární kalibrační závislosti

experimentální postup při tvorbě kalibrace:

1) testování rovnosti rozptylů podél kalibrační křivky
2) sestrojení kalibrační závislosti a její vyhodnocení
3) test linearity kalibrační závislosti
4) predikce nezávislé proměnné

Ukázka tvorby kalibrační závislosti je uvedena na následujících snímcích pro přímkovou závislost.

1) Test homoskedasticity (testování rovnosti rozptylů)

Test rozptylů pro všechny úrovně nezávisle proměnné → Bartlettův test

nebo

Zvolíme pouze dvě úrovně nezávisle proměnné (nejnižší a nejvyšší) a při každé naměříme větší počet hodnot závisle proměnné (ideálně $n \geq 10$).

Testování hypotézy $\sigma_1^2 = \sigma_m^2$

H_0: $\sigma_1^2 = \sigma_m^2$ H_1: $\sigma_1^2 \neq \sigma_m^2$

2 nezávislé soubory:

$N(\mu_1, \sigma_1^2)$ výběr n_1 prvků → s_1^2
$N(\mu_m, \sigma_m^2)$ výběr n_2 prvků → s_2^2

$$\boxed{TK = F = \frac{s_1^2}{s_m^2} \text{ nebo } \frac{s_m^2}{s_1^2}}$$

F vždy ≥ 1

pokud $TK > F_{(\frac{\alpha}{2}, n_{\text{čitatel}}-1, n_{\text{jmenovatel}}-1)}$

hypotézu H_0 zamítáme

⇓

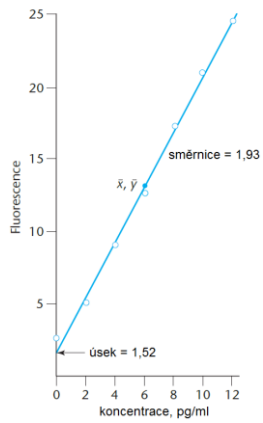
heteroskedasticita a použijeme váženou regresi

$F_{(\frac{\alpha}{2}, n_{\text{čitatel}}-1, n_{\text{jmenovatel}}-1)}$ je kritická hodnota F-rozdělení pro hladinu významnosti α

2) Přímková kalibrační závislost

$$y = ax + b$$

směrnice přímky: $a = \frac{\sum_i^n (x_i - \bar{x}) y_i}{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}$ úsek přímky: $b = \bar{y} - a\bar{x}$



<u>Příklad:</u> Vodný roztok fluoresceinu byl analyzován pomocí fluorescenčního spektrometru a poskytl následující intenzity fluorescence:

koncentrace (pg/ml):	0	2	4	6	8	10	12
intenzita fluorescence (a. u.):	2,1	5,0	9,0	12,6	17,3	21,0	24,7

Určete směrnici a úsek přímkové kalibrační závislosti.

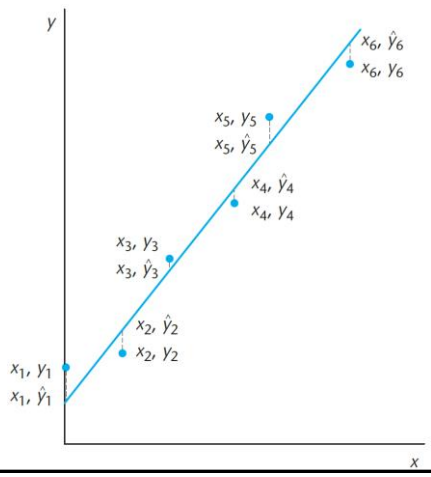
x_i	y_i	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(x_i - \bar{x})y_i$
0	2,1	-6	36	-12,6
2	5,0	-4	16	-20,0
4	9,0	-2	4	-18,0
6	12,6	0	0	0
8	17,3	2	4	34,6
10	21,0	4	16	84,0
12	24,7	6	36	148,2
42	91,7	0	112	216,2

$\bar{x} = 6 \quad \bar{y} = 13{,}1$

$$a = \frac{216{,}2}{112} = 1{,}93 \qquad b = \underset{\downarrow}{\bar{y}} - 1{,}930 \cdot \underset{\downarrow}{\bar{x}} = 1{,}52$$

Směrodatné odchylky parametrů přímkové kalibrační závislosti

reziduální odchylka kalibrační závislosti: $$s_{y/x} = s_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$



směrodatná odchylka směrnice:

$$s_a = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}}$$

směrodatná odchylka úseku:

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

interval spolehlivosti:

$$L_{12} = \text{parametr} \pm t_{(\frac{\alpha}{2};n-2)} \cdot s_{\text{parametr}}$$

Příklad: Vodný roztok fluoresceinu byl analyzován pomocí fluorescenčního spektrometru a poskytl následující intenzity fluorescence:

koncentrace (pg/ml):	0	2	4	6	8	10	12
intenzita fluorescence (a. u.):	2,1	5,0	9,0	12,6	17,3	21,0	24,7

Určete reziduální rozptyl kalibrační závislosti a intervaly spolehlivosti pro parametry ***a*** a ***b***.

x_i	y_i	x_i^2	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$\hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0	2,1	0	-6	36	1,52	0,58	0,3364
2	5,0	4	-4	16	5,38	-0,38	0,1444
4	9,0	16	-2	4	9,24	-0,24	0,0576
6	12,6	36	0	0	13,10	-0,50	0,2500
8	17,3	64	2	4	16,96	0,34	0,1156
10	21,0	100	4	16	20,82	0,18	0,0324
12	24,7	144	6	36	24,68	0,02	0,0004
		364		**112**			**0,9368**

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{0{,}9368}{7-2}} = 0{,}4329 \qquad s_b = 0{,}4329\sqrt{\frac{364}{7 \cdot 112}} = 0{,}2950 \qquad s_a = \frac{0{,}4329}{\sqrt{112}} = 0{,}0409$$

$$t_{(0{,}025;7-2)} = 2{,}57$$

$$b = 1{,}52 \pm 2{,}57 \cdot 0{,}2950 = 1{,}52 \pm 0{,}76$$

$$a = 1{,}93 \pm 2{,}57 \cdot 0{,}0409 = 1{,}93 \pm 0{,}11$$

3) Test linearity (pomocí ANOVA)

Test významnosti

H_0: $\sigma_{MOD}^2 \leq \sigma_r^2$ H_1: $\sigma_{MOD}^2 > \sigma_r^2$

jestliže H_0 platí, zvolený lineární model vyhovuje

jednostranný F-test:

$$TK = F = \frac{\frac{S_{MOD}}{df_{MOD}}}{\frac{S_r}{df_r}}$$

pokud $TK > F_{(\alpha, dfMOD, dfr)}$

hypotézu H_0 zamítáme

⇓

lineární model nevyhovuje

⇓

volba jiného modelu

regresní hodnota na *l* úrovni

$$S_{MOD} = \sum_{l=1}^{m} n_l(\bar{y}_l - y_{reg,l})^2 \qquad S_r = \sum_{l=1}^{m}\sum_{k=1}^{n_l}(y_{lk} - \bar{y}_l)^2$$

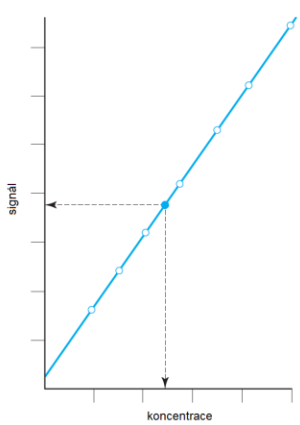
$$df_{MOD} = m - 2 \qquad df_r = n - m$$

počet opakování na *l* úrovni průměrná experimentální hodnota na *l* úrovni

m = počet různých koncentrací *n* = celkový počet měření

4) Výpočet koncentrace a její směrodatné odchylky

- známe parametry *a* a *b* → snadný výpočet koncentrace
- parametry *a* a *b* jsou ale zatížené určitou nejistotou → přenos na výsledek
- signál při měření neznámého vzorku má rovněž nejistotu → přenos na výsledek



směrodatná odchylka koncentrace vzorku:

$$s(c_{vz}) = \frac{s_{y/x}}{a}\sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_{vz} - \bar{y})^2}{a^2\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}}$$

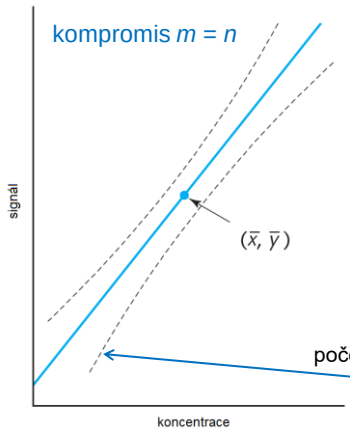
průměrný signál neznámého vzorku

počet kalibračních bodů

počet opakování měření neznámého vzorku

4) Výpočet koncentrace a jejího intervalu spolehlivosti

- známe parametry *a* a *b* → snadný výpočet koncentrace
- parametry *a* a *b* jsou ale zatížené určitou nejistotou → přenos na výsledek
- signál při měření neznámého vzorku má rovněž nejistotu → přenos na výsledek



směrodatná odchylka koncentrace vzorku:

$$s(c_{\mathrm{vz}}) = \frac{s_{y/x}}{a}\sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_{\mathrm{vz}} - \bar{y})^2}{a^2 \sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}}$$

průměrný signál neznámého vzorku

počet kalibračních bodů

počet opakování měření neznámého vzorku

interval spolehlivosti:

$$c_{\mathrm{vz}} \pm t_{(\frac{\alpha}{2};n-2)} \cdot s(c_{\mathrm{vz}})$$

Příklad: Vodný roztok fluoresceinu byl analyzován pomocí fluorescenčního spektrometru a poskytl následující intenzity fluorescence:

koncentrace (pg/ml):	0	2	4	6	8	10	12
intenzita fluorescence (a. u.):	2,1	5,0	9,0	12,6	17,3	21,0	24,7

Určete c_{vz}, $s(c_{\mathrm{vz}})$ a intervaly spolehlivosti c_{vz} pro vzorky s intenzitou fluorescence 2,9; 13,5; 23,0.

z předchozí části již známe parametry kalibrační přímky: $y = 1{,}93c + 1{,}52$

hledané koncentrace c_{vz}: 0,72 6,21 11,13 pg/ml

hledané odchylky $s(c_{\mathrm{vz}})$: 0,26 0,24 0,26 pg/ml

$$s(c_{\mathrm{vz}}) = \frac{0{,}4329}{1{,}93}\sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{7} + \frac{(2{,}90 - 13{,}1)^2}{1{,}93^2 \cdot 112}} = 0{,}26$$

hledané intervaly: 0,72 ± 0,67 6,21 ± 0,62 11,13 ± 0,68 pg/ml

$t_{(0{,}025;7-2)} = 2{,}57$ $0{,}72 \pm 2{,}57 \cdot 0{,}26 = 0{,}72 \pm 0{,}67$

Přímková kalibrační závislost pomocí Excelu

$$y = ax + b$$

směrnice přímky: $a = \frac{\sum_i^n (x_i - \bar{x})y_i}{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}$ úsek přímky: $b = \bar{y} - a\bar{x}$

=SLOPE(pole_y; pole_x) =INTERCEPT(pole_y; pole_x)

reziduální odchylka kalibrační závislosti: $s_{y/x} = s_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

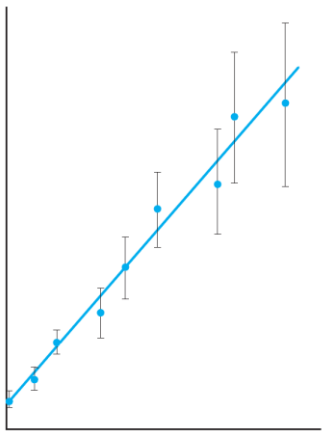
=STEYX(pole_y; pole_x)

výpočet všech výše uvedených parametrů zároveň: =LINREGRESE(pole_y; pole_x)

nepovinná vložka – vážená regrese

Vážená přímková kalibrační závislost $y = a_w x + b_w$

Regresní přímka musí být vypočtena tak, aby dala dostatečnou váhu těm bodům, kde jsou chybové úsečky nejmenší, t.j. jsou důležitější.



váha $w_i = \dfrac{\frac{1}{s_i^2}}{\sum_i \frac{1}{s_i^2}\frac{1}{n}}$

vážená směrnice přímky:

$$a_w = \frac{\sum_i^n w_i x_i y_i - n\bar{x}_w \bar{y}_w}{\sum_i^n w_i x_i^2 - n\bar{x}_w^2}$$

vážený úsek přímky:

$$b_w = \bar{y}_w - a\bar{x}_w$$

<u>Příklad:</u> Vypočítejte nevážené a vážené regresní přímky pro následující kalibrační data. Pomocí získaných přímek vypočítejte koncentrace neznámých vzorků s absorbancemi 0,100 a 0,600.

koncentrace (μg/ml):	0	2	4	6	8	10
průměrná absorbance:	0,009	0,158	0,301	0,472	0,577	0,739
směrodatná odchylka absorbance:	0,001	0,004	0,010	0,013	0,017	0,022

aplikací excelovských příkazů dostaneme pro neváženou regresní přímku:

$a = 0{,}0725$ $b = 0{,}0133$ $s_{y/x} = 0{,}0146$

hledané koncentrace c_{vz} při použití vztahu $\dfrac{y-b}{a} = c_{vz}$ jsou:

$c_{vz1} = 1{,}196\ \mu g/ml$ $c_{vz2} = 8{,}091\ \mu g/ml$

vážená regresní přímka:

x_i	y_i	$s_i(y)$	$1/s_i^2$	w_i	$w_i x_i$	$w_i y_i$	$w_i x_i y_i$	$w_i x_i^2$
0	0,009	0,001	10^6	5,535	0	0,0498	0	0
2	0,158	0,004	62 500	0,346	0,692	0,0547	0,1093	1,3838
4	0,301	0,010	10 000	0,055	0,221	0,0167	0,0667	0,8857
6	0,472	0,013	5 917,16	0,033	0,197	0,0155	0,0928	1,1791
8	0,577	0,017	3 460,21	0,019	0,153	0,0111	0,0884	1,2258
10	0,739	0,022	2 066,11	0,011	0,114	0,0084	0,0845	1,1437
30	2,256		1 083 943,5		1,377	0,1561	0,4417	5,8181

$$\bar{x}_w = \frac{1{,}377}{6} = 0{,}2295 \qquad \bar{y}_w = \frac{0{,}1561}{6} = 0{,}0260$$

Na základě provedené regrese získáváme následující parametry vážené regresní přímky:

$$a_\mathrm{w} = \frac{0{,}4417 - 6 \times 0{,}2295 \times 0{,}0260}{5{,}8181 - 6 \times 0{,}2295 \times 0{,}2295} = 0{,}0738 \qquad b_\mathrm{w} = 0{,}0260 - 0{,}0738 \times 0{,}2295 = 0{,}0091$$

hledané koncentrace c_vz při použití vztahu $\frac{y - b_w}{a_w} = c_\mathrm{vz}$ jsou:

$$c_\mathrm{vz1} = 1{,}232\ \mu\mathrm{g/ml} \qquad c_\mathrm{vz2} = 8{,}006\ \mu\mathrm{g/ml}$$

výpočet intervalů spolehlivosti:

nevážená regrese:

$$t_{(0{,}025;6-2)} = 2{,}78$$

$$c_\mathrm{vz1} = 1{,}196 \pm 0{,}650\ \mu\mathrm{g/ml}$$

$$c_\mathrm{vz2} = 8{,}091 \pm 0{,}630\ \mu\mathrm{g/ml}$$

vážená regrese:

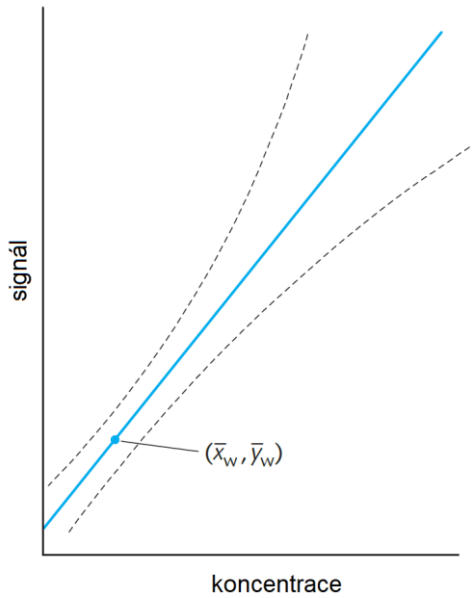
$$s_{(y/x)w} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \qquad s(c_\mathrm{vz})_w = \frac{s_{(y/x)w}}{a} \sqrt{\frac{1}{w_\mathrm{vz}} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_\mathrm{vz} - \bar{y}_w)^2}{a^2\left(\sum_{i=1}^n w_i x_i^2 - n\bar{x}_w^2\right)}}$$

kde vzít váhu vzorku?

1) vypočítat směrodatnou odchylku (váhu) z opakovaného měření neznámého vzorku
2) odhadnout ze závislosti *w* na koncentraci *c*

$$c_\mathrm{vz1} = 1{,}232 \pm 0{,}120\ \mu\mathrm{g/ml}$$

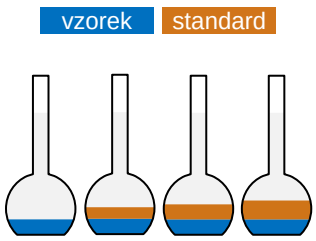
$$c_\mathrm{vz2} = 8{,}006 \pm 0{,}720\ \mu\mathrm{g/ml}$$



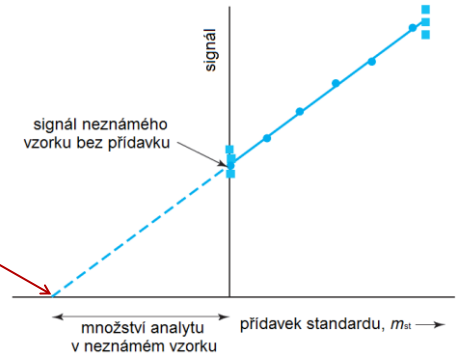
Další experimenty v kalibraci metody

Metoda přídavku standardu - s hmotností na ose *x*

- řeší efekt matrice → zesílení či zeslabení signálu vlivem interferencí, protože pouze výjimečně máme k dispozici kalibrační vzorky se stejnou matricí jako neznámý vzorek
- velmi rozšířená v AAS, AES či elektrochemii
- postupné přidávání známého množství analytu k roztoku neznámého vzorku

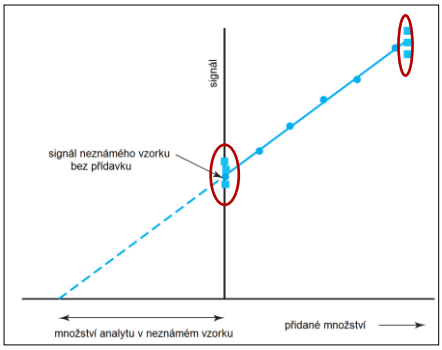


$$c_{\mathrm{vz}} = \frac{b}{a}$$



Metoda přídavku standardu - s hmotností na ose *x*

- známe parametry *a* a *b* → snadný výpočet koncentrace
- parametry *a* a *b* jsou ale zatížené určitou <u>nejistotou</u> → přenos na výsledek



aproximace směrodatné odchylky koncentrace:

$$s(c_{\mathrm{vz}}) = \frac{s_{y/x}}{a}\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{a^2\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}}$$

počet kalibračních bodů/vzorků

vyšší *n* → nižší odchylka $s(c_{\mathrm{vz}})$

pouze 2 přídavky snižují $s(c_{\mathrm{vz}})$

⇓

ale ztráta informace o chování závislosti v celém rozsahu koncentrací

Příklad: Koncentrace stříbra ve vzorku odpadní vody byla stanovena pomocí AAS s využitím standardního přídavku. Byly získány následující výsledky:

přidané množství Ag (μg na ml odpadní vody):	0	5	10	15	20	25	30
absorbance:	0,32	0,41	0,52	0,60	0,70	0,77	0,89

Určete koncentraci stříbra v odpadní vodě a příslušný 95% interval spolehlivosti.

$\bar{x} = 15$

$\bar{y} = 0{,}6014$

x_i	y_i	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(x_i - \bar{x})y_i$
0	0,32	-15	225	-4,8
5	0,41	-10	100	-4,1
10	0,52	-5	25	-2,6
15	0,60	0	0	0
20	0,70	5	25	3,5
25	0,77	10	100	7,7
30	0,89	15	225	13,35
		0	700	13,05

$$a = \frac{\sum_i^n (x_i - \bar{x})y_i}{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2} = \frac{13{,}05}{700} = 0{,}01864 \quad b = \bar{y} - a\bar{x} = 0{,}6014 - 0{,}01864 \cdot 15 = 0{,}3218$$

$$c_{\mathrm{vz}} = \frac{b}{a} = \frac{0{,}3218}{0{,}01864} = 17{,}26\ \mu\mathrm{g/ml}$$

Příklad: Koncentrace stříbra ve vzorku odpadní vody byla stanovena pomocí AAS s využitím standardního přídavku. Byly získány následující výsledky:

přidané množství Ag (μg na ml odpadní vody):	0	5	10	15	20	25	30
absorbance:	0,32	0,41	0,52	0,60	0,70	0,77	0,89

Určete koncentraci stříbra v odpadní vodě a příslušný 95% interval spolehlivosti.

$\bar{x} = 15$

$\bar{y} = 0{,}6014$

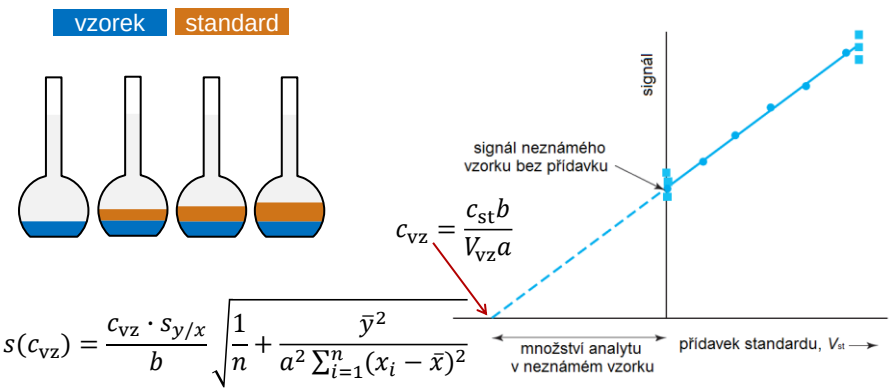
x_i	y_i	$(x_i - \bar{x})^2$	$\hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0	0,32	225	0,3218	-0,0018	3,240E-06
5	0,41	100	0,4150	-0,0050	2,500E-05
10	0,52	25	0,5082	0,0118	1,392E-04
15	0,60	0	0,6014	-0,0014	1,960E-06
20	0,70	25	0,6946	0,0054	2,916E-05
25	0,77	100	0,7878	-0,0178	3,168E-04
30	0,89	225	0,8810	0,0090	8,100E-05
		700			**5,964E-4**

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0{,}0005964}{7-2}} = 0{,}01092 \qquad s(c_{\mathrm{vz}}) = \frac{0{,}01092}{0{,}01864}\sqrt{\frac{1}{7} + \frac{0{,}6014^2}{0{,}01864^2 \cdot 700}} = 0{,}748$$

$$t_{(0{,}025;7-2)} = 2{,}57 \qquad 17{,}26 \pm 2{,}57 \cdot 0{,}748 = 17{,}3 \pm 1{,}9\ \mu\mathrm{g/ml}$$

Metoda přídavku standardu - verze s V_{st} na ose *x* (praktičtější)

- řeší efekt matrice → zesílení či zeslabení signálu vlivem interferencí
- výjimečně máme k dispozici kalibrační vzorky se stejnou matricí jako neznámý vzorek
- velmi rozšířená v AAS, AES či elektrochemii
- postupné přidávání známého množství analytu k roztoku neznámého vzorku

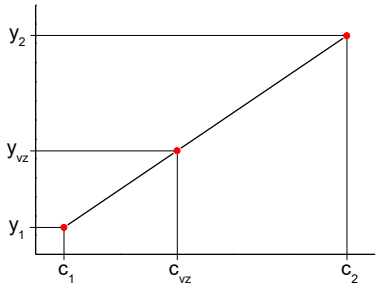


$$c_{vz} = \frac{c_{st} b}{V_{vz} a}$$

$$s(c_{vz}) = \frac{c_{vz} \cdot s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{a^2 \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}}$$

Metoda „bracketing“

Tato metoda kalibrace je založena na měření signálu analytu ve vzorku y_{vz} a dvou standardech y_1 a y_2, z nichž jeden má nižší obsah (koncentraci) c_1 a druhý vyšší obsah (koncentraci) c_2 než je obsah (koncentrace) analytu ve vzorku c_{vz}. Metoda je citlivá na matriční efekt.



$$\frac{y_2 - y_1}{c_2 - c_1} = \frac{y_{vz} - y_1}{c_{vz} - c_1}$$

rovnice pro výpočet koncentrace analytu ve vzorku

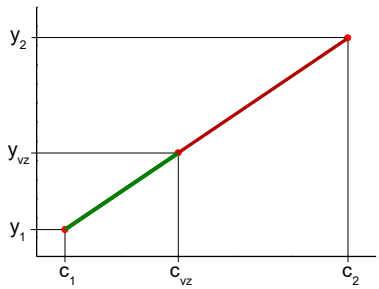
$$c_{vz} = \frac{c_2(y_{vz} - y_1) + c_1(y_2 - y_{vz})}{(y_2 - y_1)}$$

<u>Analytické předpoklady</u>:

- SOP identický pro vzorek a standardy
- vzorek a standardy jsou složením podobné
- měřicí postup je validován

Metoda „bracketing“

Tato metoda kalibrace je založena na měření signálu analytu ve vzorku y_{vz} a dvou standardech y_1 a y_2, z nichž jeden má nižší obsah (koncentraci) c_1 a druhý vyšší obsah (koncentraci) c_2 než je obsah (koncentrace) analytu ve vzorku c_{vz}. Metoda je citlivá na matriční efekt.



$$\frac{y_2 - y_1}{c_2 - c_1} = \frac{y_{vz} - y_1}{c_{vz} - c_1}$$

rovnice pro výpočet koncentrace analytu ve vzorku

$$c_{vz} = \frac{c_2(y_{vz} - y_1) + c_1(y_2 - y_{vz})}{(y_2 - y_1)}$$

Analytické předpoklady:

- SOP identický pro vzorek a standardy
- vzorek a standardy jsou složením podobné
- měřicí postup je validován

Příklad: Určete koncentraci olova ve vzorku odpadní vody pomocí metody bracketing s využitím níže uvedených dat.

veličina	c_1	c_2	y_1	y_2	y_{vz}
hodnota	2,00	12,00	0,09	0,25	0,18

$$c_{vz} = \frac{12(0{,}18 - 0{,}09) + 2(0{,}25 - 0{,}18)}{(0{,}25 - 0{,}09)}$$

výsledek analýzy

c_{vz} = 7,63

Metoda „bracketing“

Příklad: Určete koncentraci olova ve vzorku odpadní vody pomocí metody bracketing s využitím níže uvedených dat.

veličina	c_1	c_2	y_1	y_2	y_{vz}
hodnota	2,00	12,00	0,09	0,25	0,18
nejistota	0,00225	0,00625	0,005	0,005	0,005
RSU (%)	0,11	0,05	5,56	2,00	2,78

$$c_{vz} = \frac{12(0{,}18 - 0{,}09) + 2(0{,}25 - 0{,}18)}{(0{,}25 - 0{,}09)}$$

výsledek analýzy a odhad nejistoty

c_{vz} = 7,63 $u(c_{vz})$ = 0,38 RSU = 5,0 %

příspěvky jednotlivých veličin k celkové nejistotě

c_1	c_2	y_1	y_2	y_{vz}
0,00 %	0,00 %	13,58 %	19,82 %	66,59 %

81

Konec