

Statistické vyhodnocení experimentálních dat a odhad nejistoty výsledku analýzy

Studijní materiál ke cvičení z analytické chemie II.

K. Záruba, M. Suchánek

V textu jsou uvedeny řešené příklady doplňující teoretickou část a dále jsou shrnuta i zadání příkladů, které tvoří základ náplně jednotlivých cvičení, kde se k řešení využívá programu MS Excel.

Obsah

1.	Úvod.....	3
2.	Pojmy, definice a základní statistické výpočty.....	4
2.1	Pravděpodobnost, hustota pravděpodobnosti a distribuční funkce normálního rozdělení	4
2.2	Kvantily, kritické hodnoty a hladiny významnosti a spolehlivosti rozdělení $N(0, 1)$	8
3.	Statistické testy.....	13
3.1	Statistické testy opakovaných měření (jednovýběrový t-test o střední hodnotě).....	13
3.2	Statistické testy výsledků, jejichž nejistota u je známá (nejistota viz kap. 4).....	14
4.	Nejistoty měření.....	17
4.1	Terminologie.....	17
4.2	Výpočet standardních nejistot	18
4.2.1	Nejistota veličiny s normálním rozdělením	18
4.2.2	Nejistota veličiny s rovnoměrným nebo neznámým rozdělením.....	18
4.2.3	Nejistota veličiny s trojúhelníkovým rozdělením	18

5.	Rovnice měření a propagace nejistot	19
5.1	Výpočet kombinované nejistoty.....	19
5.1.1	Aditivní model.....	20
5.1.2	Multiplikační model.....	20
5.2	Kragtenův algoritmus výpočtu nejistot	21
6.	Nejistoty základních operací	26
6.1	Nejistota vážení.....	26
6.2	Nejistota objemu odměrných baněk a pipet daného objemu a třídy přesnosti	26
6.3	Nejistota objemu konkrétní jedné pipety	27
6.4	Odhad nejistoty pomocí (certifikovaného) referenčního materiálu	28
6.5	Nejistota instrumentálního signálu	29
7.	Nejistota lineární regrese	34
7.1	Metoda kalibračních roztoků – lineární regrese	34
7.2	Standardní přídavek	35
7.2.1	Jeden přídavek standardu	36
7.2.2	Více standardních roztoků – lineární regrese	36
8.	Odhad meze detekce	42
8.1	Odhad LOD z opakovaných měření slepého vzorku	42
8.2	Odhad LOD z kalibrační závislosti	42
9.	Statistické funkce v MS Excel - shrnutí	45
10.	Tolerance odměrného nádobí.....	46
11.	Seznam použité literatury	48

1. Úvod

*Co je to nejistota, co je výsledek stanovení, k čemu potřebujeme nejistotu*¹

Výsledek každého měřicího procesu je odhadem skutečné hodnoty. Je ovlivněn náhodnými a systematickými chybami, které se uplatní v průběhu měřicího procesu. Výsledek tedy nemůže představovat exaktní hodnotu a bez přidruženého údaje, který by charakterizoval odhad rozsahu zahrnutých chyb, není plnohodnotnou informací. Je proto důležité, aby výsledek měření (chemické analýzy), který slouží velice často jako podklad pro celou řadu důležitých rozhodnutí, byl doprovázen určitou informací o jeho kvalitě. Takovým údajem je hodnota **nejistoty měření**. Bez znalosti nejistoty není možné odhadnout stupeň spolehlivosti výsledku při jeho použití a rovněž nelze navzájem porovnávat různá měření téže veličiny.

Nejistota se zavádí proto, aby bylo možné kvalitu výsledku charakterizovat souhrnně jediným parametrem a aby se neporovnávaly nesouměřitelné údaje. Základním předpokladem použití nejistoty měření je kvantitativní odhad její velikosti podle jednotné metodiky platné pro všechny obory měření.

Původně vycházelo vyhodnocení nejistoty z předpokladu, že se při měření uplatňují pouze náhodné chyby. Jejich odhad byl činěn nejčastěji ve formě intervalu spolehlivosti vztaženého k průměrné hodnotě výsledků analýz opakovaných v krátkém časovém sledu. Takto odhadnutá variabilita či spolehlivost výsledku neodráží všechny vlivy, které se v měřicím procesu uplatňují. Svědčí o tom porovnání hodnot opakovatelnosti s variabilitou výsledků mezilaboratorních porovnávání. Reprodukovatelnost výsledků mezi laboratořemi má takřka vždy daleko větší rozptyl. To je pravidlem, ať se pro statistické zpracování výsledků opakovaných měření použije sebenáročnější statistický postup.

Současné pojetí nejistot měření a způsobů jejich vyhodnocení bylo definováno v roce 1993 v dokumentu International Organization for Standardization *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM).

Pro vlastní odhad nejistoty se používají dva postupy – postup zdola nahoru a postup shora dolů. Princip prvního (nazývaného též „složka po složce“) spočívá v analýze procesu měření krok po kroku. Určují se jednotlivé složky nejistoty, které se vyhodnocují a posléze se sloučí do kombinované nejistoty. Druhý postup využívá k odhadu nejistoty údaje, které jsou v laboratoři často dostupné z ověřovací (validační) studie, dlouhodobého sledování přesnosti metody např. formou regulačních diagramů, z účasti laboratoře v mezilaboratorních porovnáváních a nebo z analýza certifikovaného referenčního materiálu.

¹ Volně převzato z Kvalimetrie 13 (viz kapitola 1).

2. Pojmy, definice a základní statistické výpočty

Opakování základních termínů týkajících se pravděpodobnosti na příkladu spojitého normálního rozdělení; statistické funkce programu MS Excel

2.1 Pravděpodobnost, hustota pravděpodobnosti a distribuční funkce normálního rozdělení

Hustota pravděpodobnosti náhodné veličiny $\xi(x)$ je popsána funkcí $f(x)$. Tato funkce pro normální rozdělení $N(\mu, \sigma^2)$ má tvar

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (\text{rovnice 2.1})$$

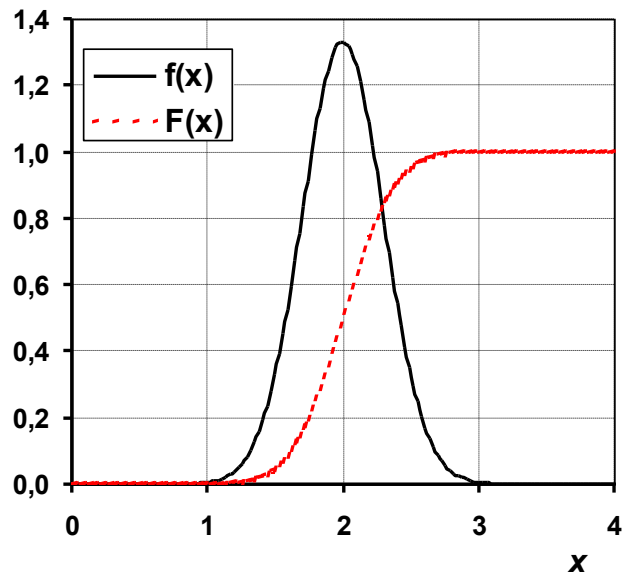
Toto rozdělení je charakterizováno dvěma parametry: μ – **střední hodnotou** a σ^2 – **rozptylem**. Hodnota σ se nazývá **směrodatná odchylka**.

Hodnoty **distribuční funkce** v určitém bodě $F(x_0)$ vypočítáme integrací funkce hustoty pravděpodobnosti od $-\infty$ do bodu x_0 ,

$$F(x_i) = \int_{-\infty}^{x_i} f(t) \cdot dt \quad (\text{rovnice 2.2})$$

Pro rozdělení $N(\mu, \sigma^2)$ lze k výpočtu hodnoty distribuční funkce použít funkci MS Excelu **=normdist(x; μ ; σ ; 1)**.

Pro hodnoty $\mu = 2,0$ a $\sigma = 0,3$, tedy pro rozdělení $N(2,0; 0,09)$ je průběh hustoty pravděpodobnosti a distribuční funkce uveden na obr. 1.



Obr. 1: Průběh hustoty pravděpodobnosti $f(x)$ a distribuční funkce $F(x)$ náhodné veličiny $\xi(x)$ s normálním rozdělením $N(2,0; 0,09)$

Hodnota distribuční funkce v bodě x_0 udává pravděpodobnost, se kterou hodnota náhodné veličiny $\xi(x)$ s daným rozdělením bude menší nebo rovna hodnotě x_0 , tedy

$$F(x_0) = P(x \leq x_0) \text{ pro spojitě funkce}$$

$$F(x_0) = P(x < x_0) \text{ pro nespojitě funkce} \quad (\text{rovnice 2.3})$$

Jak je patrné z obr. 1, je hustota pravděpodobnosti normálního rozdělení symetrická kolem střední hodnoty μ . Proto platí

$$F(-x) = 1 - F(x) \quad (\text{rovnice 2.4})$$

Pravděpodobnost výskytu hodnoty x mezi dvěma krajními mezemi y_1 a y_2 lze vypočítat jako

$$P(y_1 \leq x \leq y_2) = F(y_2) - F(y_1) \quad (\text{rovnice 2.5})$$

Každou náhodnou veličinu $\xi(x)$ s rozdělením $N(\mu, \sigma^2)$ lze převést podle následujícího vztahu na **normovanou náhodnou veličinu** $\zeta(z)$, jejíž rozdělení je $N(0,1)$

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (\text{rovnice 2.6})$$

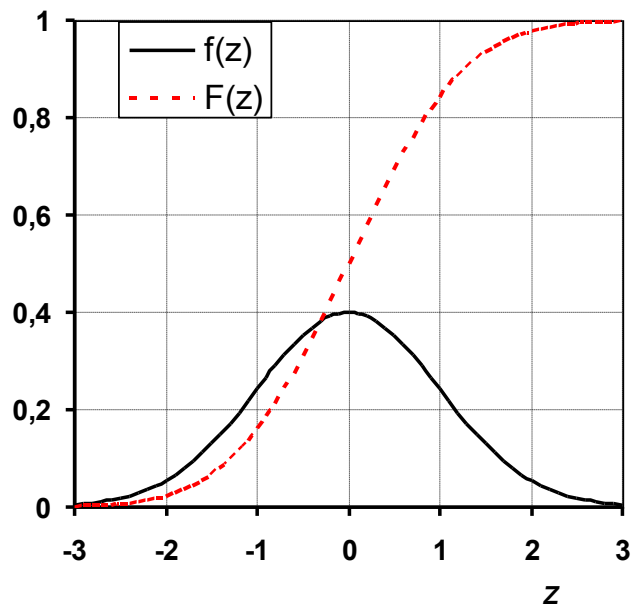
Hustota pravděpodobnosti normovaného rozdělení $N(0,1)$ má funkci

$$f(z) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{z^2}{2}} \quad (\text{rovnice 2.7})$$

Rovnice 2.2, 2.3, 2.4 a 2.5 uvedené pro náhodnou veličinu $\xi(x)$ s rozdělením $N(\mu, \sigma^2)$ platí i pro normovanou náhodnou veličinu $\zeta(z)$ s rozdělením $N(0,1)$.

Hodnoty distribuční funkce $F(z)$ se pomocí MS Excelu se vypočítají funkcí **=normsdist(z)**.

Hustota pravděpodobnosti a distribuční funkce náhodné veličiny $\zeta(z)$ jsou na obr. 2.



Obr. 2: Průběh hustoty pravděpodobnosti $f(z)$ a distribuční funkce $F(z)$ náhodné veličiny $\zeta(z)$ s rozdělením $N(0, 1)$

Příklad 1.

Veličina $\xi(x)$ má normální rozdělení se střední hodnotou $\mu = 2$ a rozptylem $\sigma^2 = 0,15$. Vypočítejte jaká je pravděpodobnost, že hodnota $x < 1,5$.

Řešení 1:

Hodnotu pravděpodobnosti vypočítáme dosazením do rovnic 2.2 a 2.3

$$=\text{normdist}(1,5;2;0,3873;1) = 0,098$$

kde $0,3873 = (0,15)^{0,5}$

Řešení 2 (jen jako demonstrace výpočtu s normovanými veličinami):

Vypočítáme normovanou hodnotu z_x , která odpovídá hodnotě $x_1 = 1,5$

$$z_x = \frac{x_1 - \mu}{\sigma} = \frac{1,5 - 2}{\sqrt{0,15}} = -1,29$$

Podle rovnice 2.2 je hledaná pravděpodobnost rovna

$$F(z_x) = F(-1,29)$$

Pomocí funkce v MS Excelu je

$$=\text{normsdist}(-1,29) = 0,098$$

V obou případech muselo vyjít to samé, tedy necelých 10 %.

Závěr: Jestliže opakované výsledky analýzy lze charakterizovat hodnotami $\mu = 2$ a $\sigma^2 = 0,15$, pak existuje asi 10% pravděpodobnost, že výsledek analýzy bude menší nebo roven hodnotě 1,5.

2.2 Kvantily, kritické hodnoty a hladiny významnosti a spolehlivosti rozdělení $N(0, 1)$

Číslo z_p nazýváme P .100% **kvantilem**, jestliže pro něj platí, že

$$F(z_p) = P \quad (\text{rovnice 2.8})$$

tedy, že pro normovanou veličinu $\zeta(z)$ platí zároveň

$$\begin{aligned} P(\zeta(z) < z_p) &< P \\ P(\zeta(z) > z_p) &> 1 - P \end{aligned} \quad (\text{rovnice 2.9})$$

95%procentní kvantil ($P = 0,95$) je tedy hodnota, kterou 95 % (normovaných) výsledků analýzy nepřekročí. Tuto hodnotu vypočítáme funkcí **=normsinv(z_p)**. Pro hodnotu 95% kvantilu ($z_{0,95}$) tedy musí platit

$$F(z_{0,95}) = 0,95$$

což splňuje hodnota $z_{0,95} = 1,64$ (=normsinv(0,95)) (obr. 3 A).

Kritická hodnota rozdělení $N(0,1)$, která se označuje z_α , je definována vztahem

$$P(\zeta(z) > z_\alpha) = \alpha \quad (\text{rovnice 2.10})$$

Číslo z_α je tedy hodnota, kterou normovaná hodnota z překročí s α .100% pravděpodobností.

Hodnota α se označuje jako **hladina významnosti** a hodnota $(1-\alpha)$ se označuje jako **hladina spolehlivosti**. Pomocí rovnic 2.9 a 2.10 lze odvodit vztah mezi kvantilem a kritickou hodnotou. Platí, že

$$P = 1 - \alpha \quad \text{resp.} \quad \alpha = 1 - P$$

Odtud vyplývá, že kvantil a hladina spolehlivosti jsou jedno a to samé.

Příklad 2.

Vypočítejte hodnotu normovaného normálního rozdělení z_β , pro kterou platí, že $P(-z_\beta < \zeta(z) < z_\beta) = 0,95$

Řešení:

Z rovnice 2.5 vyplývá, že

$$P(-z_\beta < \zeta(z) < z_\beta) = F(z_\beta) - F(-z_\beta) = F(z_\beta) - (1 - F(z_\beta)) = 2 \cdot F(z_\beta) - 1$$

odtud tedy

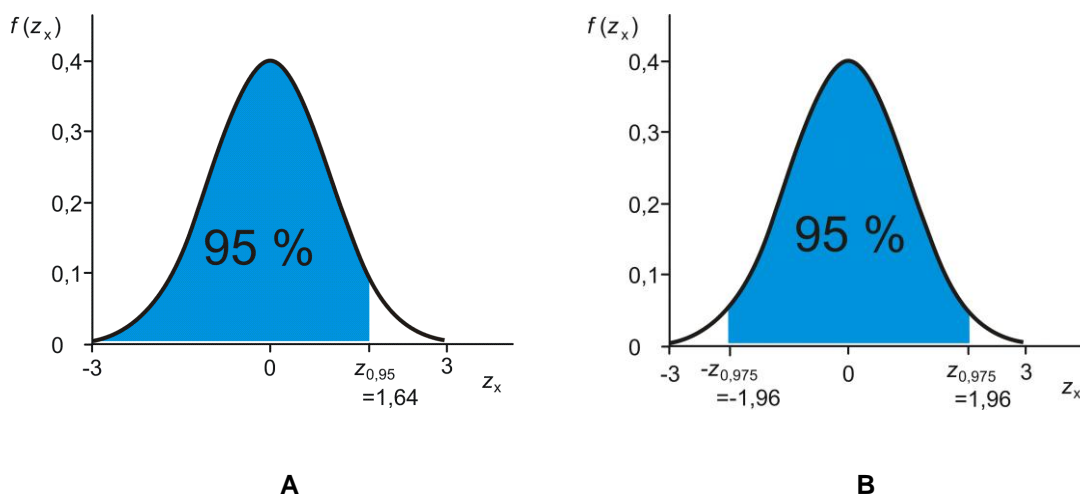
$$2 \cdot F(z_\beta) - 1 = 0,95$$

$$F(z_\beta) = \frac{0,95 + 1}{2} = 0,975$$

a pomocí funkce MS Excelu vypočítáme hodnotu z_β

$$z_\beta = \text{normsinv}(0,975) = 1,96$$

Závěr: Existuje tedy 95% pravděpodobnost, že normované hodnoty z budou ležet v intervalu od $-1,96$ do $+1,96$ (obr. 3 B).



Obr. 3: Křivky hustoty pravděpodobnosti rozdělení $N(0,1)$ s vyznačenými 95% kvantily pro jednostrannou (A) a oboustrannou (B) pravděpodobnost.

V přírodních vědách jsou všechny hypotézy ověřovány na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (5 %), tedy na hladině spolehlivosti 95 %.

Z uvedených výsledku tedy vyplývá, že požadovaná pravděpodobnost 95 % odpovídá kvantilu $z_{0,95} = 1,64$ pro jednostrannou podmínku ($\zeta(z) < z_p$) a kvantilu $z_{0,975} = 1,96$ pro oboustrannou podmínku ($-z_p < \zeta(z) < z_p$) (obr. 3. A, B).

Následující dva příklady, které toto ilustrují, představují dvě základní situace, které jsou zásadní při zpracování experimentálních hodnot.

Příklad 3

Vypočítejte hodnotu koeficientu k , aby platilo, že $P(\xi(x) < \mu + k \sigma) = 0,95$, kde μ a σ jsou střední hodnota a hodnota směrodatné odchylky.

Řešení:

Algebraickou úpravou nerovnice dostáváme

$$\frac{x - \mu}{\sigma} < k$$

a uvědomíme-li si, že levá strana nerovnice představuje nyní definici normované veličiny (srovnej s rovnicí 2.5), je jasné, že hodnota k musí odpovídat 95% kvantilu, tedy hodnotě

$$= \text{normsinv}(0,95) = 1,64$$

Závěr: Pro normální rozdělení platí, že $P(\xi(x) < \mu + 1,64 \sigma) = 0,95$.

Příklad 4.

Vypočítejte hodnotu koeficientu k , aby platilo, že $P(\mu - k \sigma < \xi(x) < \mu + k \sigma) = 0,95$

Řešení:

Stejně jako v příkladu 3 dostaneme pomocí algebraické úpravy, že hledaná hodnota k odpovídá hodnotě z_{β} , kterou jsme našli v příkladu 2. Odpovídá tedy 97,5% kvantilu, který má hodnotu

$$= \text{normsinv}(0,975) = 1,94$$

Závěr: Pro normální rozdělení platí, že $P(\mu - 1,94 \sigma < x < \mu + 1,94 \sigma) = 0,95$. Hodnota 1,94 se často zaokrouhuje na 2.

Parametry normálního rozdělení μ a σ^2 nelze zjistit, lze je pouze odhadnout. Odhadem střední hodnoty μ je **aritmetický průměr** \bar{x} definovaný jako

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (\text{rovnice 2.11})$$

=průměr(hodnoty_x)

a odhadem směrodatné odchytky σ je **výběrová směrodatná odchytk** s_{n-1} definovaná jako

$$s_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{rovnice 2.12})$$

=smodch.výběr(hodnoty_x)

Relativní směrodatná odchytk (rsd nebo s_r) je definována jako

$$s_r = \frac{s_{n-1}}{\bar{x}} \quad (\text{rovnice 2.13})$$

Aritmetický průměr rovněž není absolutní veličina. Má své rozdělení $N(\bar{x}, s_p^2)$, kde **směrodatná odchytk průměru** s_p je definována jako

$$s_p = \frac{s_{n-1}}{\sqrt{n}} \quad (\text{rovnice 2.14})$$

Přesnost výsledku je dána mírou proměnlivosti mezi hodnotami náhodné veličiny získanými několikanásobnou aplikací experimentálního postupu za předem stanovených podmínek. **Opakovatelnost** výsledku se získá opakovanou analýzou zkušebního materiálu jedním pracovníkem v dané laboratoři v určitém krátkém čase, zatímco **reprodukovatelnost** výsledku se získá opakovanou analýzou zkušebního materiálu různými pracovníky v různých laboratořích v delším časovém období.

Mírou přesnosti (opakovatelnosti a reprodukovatelnosti) je odhad příslušné směrodatné odchylky. Jinou mírou přesnosti je tzv. **rozpětí** R , definované jako rozdíl mezi nejvyšší (x_{\max}) a nejnižší (x_{\min}) hodnotou jednotlivých výsledků v sérii

$$R = x_{\max} - x_{\min}$$

(rovnice 2.14)

3. Statistické testy

Statistické testy jsou založeny na stanovení **nulové hypotézy** H_0 , tedy určitého předpokladu, který učiníme *a priori* a na základě předepsaného postupu tuto hypotézu na dané hladině významnosti buď potvrdíme, nebo vyvrátíme. Často se k nulové hypotéze definuje ještě alternativní hypotéza. Každý test se provádí na určité hladině významnosti (α).

Při testování se můžeme dopustit chyby I. druhu, jestliže zamítneme testovanou hypotézu (H_0) a ona ve skutečnosti platí. Tato chyba je obvykle malá, odpovídá právě hladině významnosti testu. Můžeme se také dopustit chyby II. druhu, a to tehdy, jestliže testovanou hypotézu (H_0) potvrdíme a ona neplatí. Velikost chyby II. druhu obvykle neznáme, často může být vyšší než je hladina významnosti testu α . Tyto skutečnosti vyplývají z podrobného rozboru statistického významu hypotéz H_0 a H_1 . Je tedy třeba zdůraznit, že zamítnutí hypotézy (H_0 nebo H_1) má statisticky významnější váhu než přijetí určité hypotézy. Tento rozdíl narůstá s klesajícím počtem měření.

3.1 Statistické testy opakovaných měření (jednovýběrový t-test o střední hodnotě)

Používají se tam, kde neznáme nejistotu měření. Proveďte se opakovaná analýza a ze získaných výsledků, které se charakterizují počtem měření (=počet(hodnoty_x)), aritmetickým průměrem \bar{x} a výběrovou směrodatnou odchylkou s_{n-1} . Jako hladina významnosti se volí $\alpha = 0,05$.

Nejčastějšími případy jsou rozhodování, zda se střední hodnota testovaného souboru významně liší od referenční hodnoty, nebo zda střední hodnota testovaného souboru překročila daný legislativní limit.

1. Testování hypotézy, že střední hodnota μ je shodná s určitou hodnotou (danou např. legislativním limitem) μ_0 , tedy $H_0: \mu = \mu_0$ ($H_1: \mu \neq \mu_0$). Tato hypotéza se označuje jako oboustranná. Potvrzení hypotézy H_0 lze slovně interpretovat jako „*střední hodnota testovaného souboru dat se statisticky významně (s pravděpodobností 95 %) neliší od hodnoty μ_0* “. Při zamítnutí hypotézy H_0 lze tvrdit, že „*střední hodnota testovaného souboru dat se statisticky významně liší od hodnoty μ_0* “.

Hypotézu na dané hladině spolehlivosti potvrdíme, jestliže hodnota μ_0 leží uvnitř tzv. **intervalu spolehlivosti**, tedy že platí nerovnosti

$$\bar{x} - t_{1-\frac{\alpha}{2};n-1} \cdot \frac{s_{n-1}}{\sqrt{n}} \leq \mu_0 \leq \bar{x} + t_{1-\frac{\alpha}{2};n-1} \cdot \frac{s_{n-1}}{\sqrt{n}} \quad (\text{rovnice 3.1})$$

kde hodnota $t_{1-\alpha/2; n-1}$ je tzv. kritická hodnota Studentova rozdělení pro oboustranný interval spolehlivosti a jejími parametry je počet stupňů volnosti, který se vypočítá jako počet měření minus jedna, a hladina významnosti α . V MS Excelu získáme tuto hodnotu funkcí **=tinv(α ;n-1)**. Ostatními parametry jsou aritmetický průměr (\bar{x}), výběrová směrodatná odchylka (s_{n-1}) a počet hodnot (počet měření) (n).

2. Testování hypotézy, že střední hodnota μ je menší nebo rovna než určitá např. legislativní hodnota μ_0 , tedy $H_0: \mu \leq \mu_0$ ($H_1: \mu > \mu_0$). Tato hypotéza se označuje jako jednostranná.

Hypotézu na dané hladině spolehlivosti potvrdíme, jestliže platí

$$\bar{x} - t_{1-\alpha; n-1} \frac{s_{n-1}}{\sqrt{n}} \leq \mu_0 \leq \infty \quad (\text{rovnice 3.2})$$

kde hodnota $t_{n-1; 1-\alpha}$ je tzv. kritická hodnota Studentova rozdělení pro jednostranný interval spolehlivosti a v MS Excelu získáme tuto hodnotu funkcí **=tinv(2. α ;n-1)**. Ostatní symboly (\bar{x} , s_{n-1} , n) mají stejný význam jako u oboustranného testu.

3.2 Statistické testy výsledků, jejichž nejistota u je známá (nejistota viz kap. 4)

Hladina významnosti testů je opět $\alpha = 0,05$, tedy testování je provedeno na hladině spolehlivosti 95 %

1. Testování hypotézy $H_0: \mu = \mu_0$

Hypotéza platí, jestliže

$$|x - \mu_0| \leq k \cdot u_x \quad (\text{rovnice 3.3})$$

kde x je výsledek měření, u_x je nejistota výsledku měření a k je koeficient rozšíření (podrobněji viz kapitola 2.2). Pro zvolenou hladinu spolehlivosti je $k = 2$.

2. Testování hypotézy $H_0: \mu \leq \mu_0$

Hypotéza platí, jestliže

$$x - \mu_0 \leq k \cdot u_x \quad (\text{rovnice 3.4})$$

kde x je výsledek měření, u_x je nejistota výsledku měření a k je koeficient rozšíření. Pro zvolenou hladinu spolehlivosti je $k = 1,64$.

3. Testování hypotézy $H_0: \mu_1 = \mu_2$

Známe-li výsledky dvou analýz (x_1, x_2) včetně obou jejich nejistot (u_1, u_2), potvrdíme nulovou hypotézy, jestliže platí

$$|x_1 - x_2| \leq k \cdot \sqrt{u_1^2 + u_2^2} \quad (\text{rovnice 3.5})$$

kde k je koeficient rozšíření. Pro zvolenou hladinu spolehlivosti je $k = 2$.

PŘÍKLADY NA PROCVIČENÍ 1

Příklad 1.1

Při analýze metodou GC je nutné znát opakovatelnost dávkování a integrace píků, neboť oba analytické úkony tvoří významnou část rozpočtu nejistot jakéhokoli chromatografického stanovení. Opakovaný nástřik standardu poskytl experimentální údaje o plochách píků (viz tabulka). Vypočtete aritmetický průměr, výběrovou směrodatnou odchylku, relativní směrodatnou odchylku a směrodatnou odchylku průměru. Rovněž zjistěte rozmezí naměřených dat.

<u>č. měření</u>	<u>plocha píku</u>
1	2957398
2	3733127
3	2900811
4	3010190
5	2810196
6	2084063

Příklad 1.2

Pro stanovení opakovatelnosti metody stanovení Se v rýži bylo provedeno 9 měření jednoho vzorku hnědé rýže (viz tabulka). Vypočtete průměr, směrodatnou odchylku opakovatelnosti, relativní směrodatnou odchylku a směrodatnou odchylku průměru.

<u>č. měření</u>	<u>obsah Se, mg/g</u>
1	0,07
2	0,07
3	0,08
4	0,07
5	0,07
6	0,08
7	0,08
8	0,09
9	0,08

Příklad 1.3

Stanovením dusíku Kjeldahlovou metodou bylo v acetanilidu nalezeno: 10,38 %, 10,34 %, 10,33 %, 10,31 % a 10,26 % N. Teoretický obsah v acetanilidu je 10,36%. Na základě statistického testu pro opakované pokusy zjistěte, zda je metoda zatížena systematickou odchylkou na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Nápověda: testujte hypotézu $\mu = \mu_0$ (rovnice 3.1). Jestliže hodnota $\mu_0 = 10,36$ bude ležet uvnitř nalezeného intervalu spolehlivosti, lze na zvolené hladině spolehlivosti tvrdit, že metoda není zatížena systematickou chybou.

Příklad 1.4

0,6490 g CRM kyseliny borité bylo rozpuštěno ve vodě a doplněno v odměrné baňce na 100 ml. Alikvotní podíl 10 ml byl titrován alkalimetry roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1000 mol/l. Při 5x opakované titraci stejného alikvotního podílu zásobního roztoku byly získány následující spotřeby titračního činidla: 9,88; 10,18; 10,23; 10,39; 10,25 ml. Vypočtete průměrnou spotřebu titračního činidla, výběrovou směrodatnou odchylku a na základě opakovaných pokusů rozhodněte, zda zvolená titrační metoda vykazuje systematickou odchylku. $M(\text{H}_3\text{BO}_3) = 61,83 \text{ g/mol}$

Nápověda: Zjistěte, zda látkové množství NaOH, které odpovídá navážce CRM k borité, leží uvnitř intervalu spolehlivosti vypočítaného z látkových množství NaOH potřebných k neutralizaci při jednotlivých titracích.

4. Nejistoty měření

4.1 Terminologie

Standardní nejistota $u(x)$ je nejistota hodnoty veličiny vyjádřená jako výběrová směrodatná odchylka, jejíž výpočet je závislý na typu rozdělení.

Kombinovaná (standardní) nejistota $u(y)$ je standardní nejistota výsledku měření, který se vypočítá z hodnot odpovídajících několika dalším veličinám. Kombinovaná nejistota je rovna kladné hodnotě druhé odmocniny součtu výrazů, jimiž jsou hodnoty rozptylů nebo kovariancí těchto dalších veličin s přiřazenou váhou tak, aby odrážely změny výsledku ve vztahu k těmto veličinám.

Relativní standardní (kombinovaná) nejistota se obvykle značí u_r nebo častěji rsu , ačkoliv vícepísmenné označení veličin není doporučováno, a vypočítá se analogicky jako relativní směrodatná odchylka (rovnice 2.13).

Rozšířená nejistota $U(y)$ je veličina definující interval hodnot v okolí výsledku měření, který obsahuje velký podíl z rozdělení hodnot, které mohou být důvodně přiřazeny k měřené veličině. Rozšířenou nejistotu vypočítáme podle vztahu

$$U(y) = k * u(y) \quad \text{(rovnice 4.1)}$$

kde k tzv. **koeficient rozšíření** (koeficient pokrytí). Jeho hodnota (nejčastěji $k = 1,96$ a po zaokrouhlení $k = 2$) vyplývá z úvah uvedených v kapitole 2.2.

Výsledek analýzy, který představuje „nejlepší odhad skutečné hodnoty“, udáváme ve tvaru

$$y \pm U(y)$$

který je doplněn o hodnotě koeficientu rozšíření k .

Odhad standardní nejistoty $u(x)$ lze získat dvojím způsobem:

- způsob A: nejistota zjišťovaná z měření v laboratoři – nejčastěji jako výběrová směrodatná odchylka
- způsob B: nejistota získaná z jiných zdrojů (specifikace výrobce, literární údaje, certifikáty...) – pokud není uveden typ rozdělení, předpokládáme rovnoměrné rozdělení

4.2 Výpočet standardních nejistot

4.2.1 Nejistota veličiny s normálním rozdělením

Standardní nejistota veličiny s normálním rozdělením se vypočítá jako výběrová směrodatná odchylka (rovnice 2.12). Pokud je jako vstupní veličina použit aritmetický průměr z n opakování, pak standardní nejistota je rovna směrodatné odchylce průměru (rovnice 2.14).

4.2.2 Nejistota veličiny s rovnoměrným nebo neznámým rozdělením

V praxi je u některých vstupních veličin známo nebo předpokládáno pouze určité rozmezí hodnot (horní a dolní mezní hodnota nebo nejvyšší dovolená odchylka). Odhad standardní nejistoty se v tomto případě provede z hodnot tohoto intervalu a z předpokladu rozdělení hodnot dané veličiny.

Pro rovnoměrné rozdělení se standardní nejistota vypočítá jako

$$u = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (\text{rovnice 4.2})$$

kde a je

$$a = \frac{\text{horní mez} - \text{dolní mez}}{2}$$

Pro neznámé rozdělení vždy aproximujeme výpočet standardní nejistoty rovnoměrným rozdělením.

4.2.3 Nejistota veličiny s trojúhelníkovým rozdělením

V případě, že vstupní veličina má trojúhelníkové rozdělení, standardní nejistota se vypočítá podle vztahu

$$u = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad (\text{rovnice 4.3})$$

kde a je definováno stejně jako v kapitole 4.2.2. Toto rozdělení mají např. tolerance odměrného nádobí (odměrných baněk, pipet, byret) podle ČSN.

5. Rovnice měření a propagace nejistot

Bilancování nejistoty není ani rutinní práce, ani čistě matematické cvičení. Je závislé na úplné znalosti měřené veličiny a měřícího postupu. Rovnice měření zahrnuje vztah mezi výsledkem a všemi vstupními veličinami, které výsledek ovlivňují. Jejich seznam získáme při tzv. validaci měřícího postupu. Rovnici měření lze v obecném tvaru psát jako

$$y = f(x_i)$$

kde y je měřená veličina a x_i jsou vstupní veličiny. Funkce $f(x_i)$ musí obsahovat všechny vstupní veličiny, aby při bilancování nejistoty byly uvažovány všechny zdroje nejistot.

Desatero bilancování nejistoty podle *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*

1. definuj měřenou veličinu
2. popiš měřící postup modelem měření
3. identifikuj všechny zdroje nejistoty
4. odhadni hodnoty všech vstupních veličin (modelu měření)
5. odhadni standardní nejistoty každé ze vstupních veličin
6. vypočti hodnotu měřené veličiny (pomocí rovnice měření)
7. vypočti kombinovanou nejistotu výsledku
8. vypočti rozšířenou nejistotu (s vybraným koeficientem rozšíření)
9. analyzuj jednotlivé příspěvky k celkové nejistotě a přemýšlej o nich
10. dokumentuj všechny kroky a písemně je zaznamenej a uchovej

5.1 Výpočet kombinované nejistoty

Citlivost (koeficienty selektivity) měřené hodnoty y vzhledem k hodnotám jednotlivých vstupních veličin x_i označme c_i . Platí

$$c_i = \frac{\partial y}{\partial x_i} \quad (\text{rovnice 5.1})$$

Podle zákona šíření chyb je kombinovaná nejistota hodnoty y dána

$$u(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N c_i^2 u(x_i)^2 + 2 \cdot \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N c_i c_j u(x_i, x_j)} \quad (\text{rovnice 5.2})$$

Pokud jsou veličiny x_i vzájemně nezávislé, je „kovarianční“ člen $\sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N c_i c_j u(x_i, x_j)$ roven nule.

5.1.1 Aditivní model

Je-li výstupní veličina dána lineární kombinací nezávislých vstupních veličin, např.

$$y = K_1 \cdot x_1 + K_2 \cdot x_2 + K_3 \cdot x_3$$

kde K_1 , K_2 a K_3 jsou konstanty, vypočítá se kombinovaná nejistota podle vztahu

$$u(y) = \sqrt{K_1^2 \cdot u(x_1)^2 + K_2^2 \cdot u(x_2)^2 + K_3^2 \cdot u(x_3)^2} \quad (\text{rovnice 5.3})$$

5.1.2 Multiplikační model

Je-li výstupní veličina dána součinem nezávislých vstupních veličin, např.

$$y = K \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot x_3$$

kde K je konstanta, vypočítá se kombinovaná nejistota podle vztahu

$$u(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2} \quad (\text{rovnice 5.4})$$

Použitím definice relativní standardní nejistoty (kapitola 4.1) lze rovnici 5.4 přepsat do tvaru

$$u_r(y) = \sqrt{u_r(x_1)^2 + u_r(x_2)^2 + u_r(x_3)^2}$$

5.2 Kragtenův algoritmus výpočtu nejistot

U komplikovanějších vztahů je nutné buď vztah rozložit na jednotlivé části, na které lze aplikovat aditivní nebo multiplikativní model, a postupně vypočítat výslednou kombinovanou nejistotu, nebo lze použít níže popsaný Kragtenův algoritmus.

Algoritmus výpočtu vychází z obecné rovnice 5.2, ve kterém opět zanedbává kovarianci. Vstupní veličiny opět považujeme za vzájemně nezávislé. Výpočet citlivosti podle rovnice 5.1 se aproximuje pomocí Taylorova rozvoje

$$\frac{\partial y}{\partial x_i} \approx \frac{y(x_i + u_{x_i}) - y(x_i)}{u_{x_i}} \quad (\text{rovnice 5.5})$$

a rovnici pro výpočet kombinované nejistoty (rovnice 5.2) lze přepsat do tvaru

$$u(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N [y(x_i + u_{x_i})]^2} \quad (\text{rovnice 5.6})$$

Výhodou tohoto algoritmu je, že je nezávislý na vzájemném matematickém vztahu vstupních veličin, nerozlišuje se tedy, zda jde o aditivní nebo multiplikativní vztahy. Daná konkrétní aplikace závisí pouze na počtu vstupních veličin. Výrazně se tím eliminuje možnost chyb při výpočtu a např. pomocí MS Excelu lze vytvořit univerzální aplikační listy, pro výpočet kombinované nejistoty libovolných vztahů.

Postup je demonstrován na následujícím příkladu.

Příklad 3

Rovnice měření je ve tvaru

$$y = \frac{2x_1}{x_2} - x_3$$

Hodnoty vstupních veličin x_i včetně standardních nejistot u_i a relativních nejistot (rsu) shrnuje následující tabulka

	x_i	u_i	rsu
1	5,03	0,11	2,2 %
2	0,0253	0,0005	2,0 %
3	60,250	0,021	0,03 %

Vypočítejte hodnotu y včetně standardní nejistoty $u(y)$.

Řešení:

Hodnotu y vypočítáme dosazením do rovnice měření

$$y = \frac{2x_1}{x_2} - x_3 = \frac{2 \cdot 5,03}{0,0253} - 60,25 = 337,378$$

Pro odhad kombinované nejistoty $u(y)$ zkonstruujeme následující tabulky

x_1	u_1			
x_1	u_1	$x_1 + u_1$	x_1	x_1
x_2	u_2	x_2	$x_2 + u_2$	x_2
x_3	u_3	x_3	x_3	$x_3 + u_3$
$y(x_i, u_i)$		$y(x_1+u_1; x_2; x_3)$	$y(x_1; x_2+u_2; x_3)$	$y(x_1; x_2; x_3+u_3)$
$y(x_i)$		$y(x_1; x_2; x_3)$		
diff ²		$[y(x_1; x_2; x_3) - y(x_1+u_1; x_2; x_3)]^2$	$[y(x_1; x_2; x_3) - y(x_1; x_2+u_2; x_3)]^2$	$[y(x_1; x_2; x_3) - y(x_1; x_2; x_3+u_3)]^2$
suma(diff ²)		$\text{diff}_1^2 + \text{diff}_2^2 + \text{diff}_3^2$		
index		$\text{diff}_1^2 / \text{suma}(\text{diff}^2) \cdot 100\%$	$\text{diff}_2^2 / \text{suma}(\text{diff}^2) \cdot 100\%$	$\text{diff}_3^2 / \text{suma}(\text{diff}^2) \cdot 100\%$

Hodnotu kombinované nejistoty $u(y)$ vypočítáme jako druhou odmocninu ze součtu druhých mocnin diferencí, tedy

$$u(y) = \sqrt{\text{suma}(\text{diff}^2)}$$

Dosadíme-li zadané hodnoty, dostáváme

5,03	0,11	5,14	5,03	5,03
0,0253	0,0005	0,0253	0,0258	0,0253
60,25	0,25	60,25	60,25	60,50
$y(x_i, u_i)$		346,074	329,672	337,128
$y(x_i)$		337,378		
diff^2		75,614	59,382	0,063
$\text{suma}(\text{diff}^2)$		135,06		
index		55,99%	43,97%	0,05%

odkud

$$u(y) = \sqrt{\text{suma}(\text{diff}^2)} = \sqrt{135,06} = 11,6$$

Výsledky obvykle zaokrouhlujeme takto: kombinovanou nejistotu zaokrouhlíme na dvě platná čísla. Tím získáme počet desetinných míst, na která zaokrouhlíme vypočítanou hodnotu. V našem případě je kombinovaná nejistota $u(y) = 12$, a proto i výsledek zaokrouhlíme na jednotky, tedy $y = 337$.

V uvedeném schématu výpočtu je rovněž uveden tzv. **index**. Pomocí jeho hodnoty snadno identifikujeme nejistoty těch veličin, které převážnou měrou přispívají k hodnotě kombinované nejistoty. V našem případě je zřejmé, že ke kombinované nejistotě přispívají především nejistoty u_1 a u_2 . (K podobnému závěru dospějeme, vezmeme-li v úvahu hodnoty relativních nejistot (rsu) – viz zadání příkladu.)

Naprosto stejným schématem by se počítala i nejistota jakékoliv jiné veličiny rovné funkci tří vstupních veličin x_1 , x_2 a x_3 . Podle konkrétního tvaru dané funkce se pouze upraví výpočet řádků $y(x_i, u_i)$ a $y(x_i)$.

PŘÍKLADY NA PROCVIČENÍ 2

Příklad 2.1

Vypočítejte výsledek (y) včetně kombinované nejistoty (u_y), kterou vypočítáte pomocí Kragtenova algoritmu a bez něj.

$$\text{a) } y = (128 \pm 2) + (1025 \pm 8) - (636 \pm 4)$$

$$\text{b) } y = (16,25 \pm 0,06) - (9,43 \pm 0,03)$$

$$\text{c) } y = (46,1 \pm 0,04) + (935 \pm 1)$$

Příklad 2.2

Vypočítejte výsledek (y) včetně kombinované nejistoty (u_y), kterou vypočítáte pomocí Kragtenova algoritmu a bez něj.

$$\text{a) } y = (2,78 \pm 0,04) \cdot (0,00506 \pm 0,0006)$$

$$\text{b) } y = \frac{36,2 \pm 0,04}{27,1 \pm 0,6}$$

$$\text{c) } y = \frac{(50,23 \pm 0,07) \cdot (27,86 \pm 0,05)}{0,1167 \pm 0,0003}$$

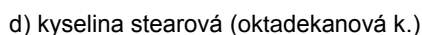
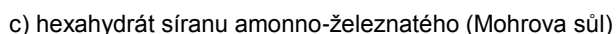
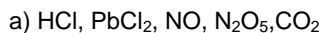
Příklad 2.3

Vypočítejte výsledek (y) včetně kombinované nejistoty (u_y), kterou vypočítáte pomocí Kragtenova algoritmu a bez něj.

$$y = (25,0 \pm 0,1) \cdot (0,0215 \pm 0,0003) - (1,02 \pm 0,01) \cdot (0,112 \pm 0,01) \cdot \frac{17,0 \pm 0,2}{5,87 \pm 0,01}$$

Příklad 2.4

Pomocí tabulky atomových hmotností včetně jejich tolerancí (předpokládejte rovnoměrné rozdělení), vypočítejte molekulovou hmotnost včetně (kombinované) nejistoty pro následující sloučeniny. Nejistotu vypočítejte Kragtenovým algoritmem.



Tabulka atomových hmotností včetně tolerancí (www.webelements.com)

prvek	M	tol
<i>H</i>	1,00794	0,00007
<i>O</i>	15,9994	0,0003
<i>N</i>	14,0067	0,0002
<i>S</i>	32,065	0,005
<i>C</i>	12,0107	0,0008
<i>Fe</i>	55,845	0,002
<i>Ni</i>	58,6934	0,0002
<i>Na</i>	22,98976928	0,00000002
<i>Cl</i>	35,453	0,002
<i>Pb</i>	207,2	0,1
<i>Zn</i>	65,409	0,004
<i>Hg</i>	200,59	0,02

6. Nejistoty základních operací²

6.1 Nejistota vážení

Nejistota vážení je tvořena dvěma hlavními složkami: nejistotou opakovatelnosti vážení (typ A) a nejistotou kalibrace vah (typ B).

Obvyklá nejistota diferenční navážky na čtyřmístných analytických vahách je 0,1 mg.

6.2 Nejistota objemu odměrných baňek a pipet daného objemu a třídy přesnosti

Existují tři zdroje nejistot, které ovlivňují kombinovanou nejistotu objemu roztoku v odměrné baňce nebo objemu roztoku odměřeného pipetou:

1. Nejistota deklarovaného objemu – charakterizována tolerancí $\pm a$, která je dána třídou přesnosti podle ČSN³. U těchto tolerancí se předpokládá trojúhelníkové rozdělení (rovnice 4.2).

2. Nejistota doplnění odměrné baňky po rysku resp. nejistota objemu odměřeného pipetou – tzv. nejistota opakovatelnosti, která je rovna výběrové směrodatné odchylce vypočítané z výsledků opakovaných měření objemu (vážením).

3. Nejistota způsobená různou teplotou kapaliny (a baňky) při práci v laboratoři a při kalibraci. Nejistota objemu způsobená tepelnou roztažností se vypočítá podle vztahu

$$u_3 = \frac{V \cdot \Delta T \cdot \beta}{\sqrt{3}} \quad (\text{rovnice 6.1})$$

Vypočítanou hodnotu kombinované popř. rozšířené nejistoty lze vztáhnout na všechny odměrné baňky nebo pipety daného typu (stejný výrobce, stejný jmenovitý objem a stejná třída přesnosti).

² <http://www.eurachem.cz/metodicke-listy.php>; <http://www.eurachem.org/> (Guides&Docs)

³ nedělené pipety: ČSN 70 4119; dělené pipety: ČSN 70 4120; odměrné baňky: ČSN ISO 1042; odměrné válce: ČSN 70 4102-1, 70 4102-2; byrety ČSN 70 4130

Příklad 4

Vypočítejte nejistotu objemu roztoku po doplnění odměrné baňky o objemu 250 ml (třída A) vodou po rysku při kolísání teploty v laboratoři v rozsahu ± 3 °C.

Řešení:

Tolerance objemu této baňky je $\pm a = 0,15$ ml. Nejistota deklarovaného objemu je potom

$$u_1 = \frac{a}{\sqrt{6}} = \frac{0,15}{\sqrt{6}} = 0,061 \text{ ml}$$

Budiž relativní směrodatná odchylka doplnění 0,2 %. Toto představuje přijatelnou hodnotu, kterou použijeme k výpočtu, pokud opakovatelnost doplnění po rysku nestanovíme sami. Pro objem 250 ml bude tedy výběrová směrodatná odchylka

$$s_{n-1} = 0,002 \cdot 250 = 0,5 \text{ ml}$$

Tato hodnota je zároveň standardní nejistotou $u_2 = 0,5$ ml.

K odhadu nejistoty způsobené tepelnou roztažností především kapaliny (tepelnou roztažnost skleněné baňky zanedbáme) potřebujeme znát teplotu, při které byl jmenovitý objem kalibrován (obvykle 20 °C), odchylku aktuální teploty v laboratoři (podle zadání ± 3 °C) a tepelnou roztažnost kapaliny, v tomto případě vody (podle tabulky tepelných roztažností je koeficient $\beta(\text{voda}) = 2,07 \cdot 10^{-4} \text{ K}^{-1}$). Dosazením do rovnice 6.1 dostáváme

$$u_3 = \frac{V \cdot \Delta T \cdot \beta}{\sqrt{3}} = \frac{250 \cdot 3 \cdot 2,07 \cdot 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 8,96 \cdot 10^{-2} \text{ ml}$$

Kombinovanou nejistotu vypočítáme pomocí aditivního modelu (rovnice 5.3). V našem případě

$$u = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} = \sqrt{0,061^2 + 0,5^2 + (8,96 \cdot 10^{-2})^2} = 0,51 \text{ ml}$$

Uvážíme-li hodnoty jednotlivých nejistot, je patrné, že hlavním zdrojem nejistoty je nejistota doplnění odměrné baňky po rysku.

6.3 Nejistota objemu konkrétní jedné pipety

Postup stanovení popsany v kapitole 6.2 nám umožní stanovit nejistotu objemu všech odměrných baněk nebo pipet daného jmenovitého objemu a třídy přesnosti sumárně. Výslednou nejistotu lze potom vztáhnout na libovolnou odměrnou baňku nebo pipetu stejného typu. Budeme-li ale používat pouze jedinou pipetu (příklad použití jediné odměrné baňky nemá v praxi smysl), můžeme provést „zpřesnění“ odhadu nejistoty deklarovaného objemu.

Provedeme následující postup

1. Opakovaným měřením (vážením) pipetovaného objemu určíme objem pipetované kapaliny jako aritmetický průměr.

2. Nejistota opakovatelnosti je rovna nejistotě aritmetického průměru, tedy výběrové směrodatné odchylce průměru (rovnice 2.14) vypočítané z výsledků opakovaných měření objemu (vážením).

3. Nejistota objemu způsobená tepelnou roztažností se vypočítá podle rovnice 6.1.

Na druhou stranu je třeba říci, že hodnotu pipetovaného objemu spolu s kombinovanou nejistotou vypočítanou následujícím postupem není doporučeno v laboratoři „sdílet“. Důvodem je možná existence interpersonálních systematických chyb, tedy, že stejnou pipetu zkalibrují různí lidé různě. V praxi proto převažuje postup popsáný v kapitole 6.2.

6.4 Odhad nejistoty pomocí (certifikovaného) referenčního materiálu

Zatímco v předchozích částech této kapitoly byly popsány dílčí kroky stanovení nejistoty výsledku analýzy tzv. „zdola nahoru“, vyhodnocení výsledku analýzy referenčního materiálu představuje opačný postup, tedy „shora dolů“.

Nejistota výsledku je potom tvořena třemi příspěvky

- nejistotou deklarované hodnoty obsahu analytu v referenčním materiálu u_{RM}
- nejistotou opakovatelnosti odpovídající výběrové směrodatné odchylce opakované analýzy referenčního materiálu (u_A)
- tzv. vychýlením, které je rovno rozdílu mezi naměřenou hodnotou (aritmetickým průměrem opakovaných měření, \bar{x}) a deklarovanou hodnotou x_T , pro vychýlení Δ tedy platí

$$\Delta = |\bar{x} - x_T|$$

a vypočítá se podle vztahu

$$u = \sqrt{u_{RM}^2 + u_A^2 + \Delta^2} \quad (\text{rovnice 6.2})$$

6.5 Nejistota instrumentálního signálu

Nejistota měřené veličiny (např. absorbance) je tvořena třemi příspěvky

- nejistotou opakovatelnosti odpovídající výběrové směrodatné odchylce opakovaného měření signálu referenčního materiálu (standardu) (u_1)
- instrumentální reprodukovatelností (nejistota typu B) u_2
- instrumentální správností, kterou udává výrobce (nejistota typu B) u_3

a vypočítá se podle vztahu

$$u = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} \quad (\text{rovnice 6.3})$$

PŘÍKLADY NA PROCVIČENÍ 3

Příklad 3.1

Vypočítejte kombinovanou nejistotu stanovení obsahu oxidu železitého v železné rudě, je-li navážka vzorku 0,1050 g a vyvážka oxidu železitého 0,0525 g.

Příklad 3.2

Vypočítejte kombinovanou nejistotu objemu vody v odměrné baňce o objemu 250 mL (třída přesnosti A). Při výpočtu příspěvku tepelné roztažnosti vody ke kombinované nejistotě uvažujte odchylku teploty 3 °C.

Příklad 3.3

Navážka 0,128 g Mohrovy soli ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) byla rozpuštěna ve 250 mL odměrné baňce (třída A). Vypočtete koncentraci železnatých iontů [g/mL] a rozšířenou nejistotu koncentrace železnatých iontů ($k = 2$). Při výpočtu nejistoty objemu odměrné baňky uvažujte rel. směrodatnou odchylku opakovatelnosti doplnění odměrné baňky po značku 0,2 %.

Příklad 3.4

Pipeta o jmenovitém objemu 5 mL (třída A) byla kalibrována vážením objemu vody při 25 °C. Bylo provedeno 10 měření, výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

číslo	m [g]
1	5,0307
2	5,0122
3	5,0403
4	5,0323
5	5,0203
6	5,0418
7	5,0280
8	5,0228
9	5,0390
10	5,0383

Hustota vody při 25 °C je 0,997044 g.cm⁻³, tepelná roztažnost vody je 2,07.10⁻⁴ K⁻¹.

- a) Vypočtete nejistotu všech 5 mL pipet v laboratoři (uvažujte vliv změny teploty v laboratoři ± 3°C).
- b) Jaký je dávkovaný objem a nejistota této konkrétní pipety?

Příklad 3.5

Mikropipeta PLASTOMED o jmenovitém objemu 500 μL byla kalibrována opakovaným vážením vypuštěného objemu vody při teplotě 20 °C. Výběrová směrodatná odchylka deseti měření byla 1,3 μL, aritmetický průměr 496,9 μL. Vypočtete nejistotu pipetování vodných a methanolických roztoků touto pipetou s uvažováním vlivu teploty v laboratoři v rozsahu ± 3 °C.

Příklad 3.6

Pipeta o jmenovitém objemu 1 mL (třída B) byla kalibrována vážením objemu vody při 20 °C. Bylo provedeno 10 měření, výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

	m [g]
1	0,9728
2	0,9774
3	0,9838
4	0,9700
5	0,9789
6	0,9748
7	0,9794
8	0,9881
9	0,9836
10	0,9817

Jaká je nejistota této pipety s uvažováním vlivu změn teploty v laboratoři ±3 °C při pipetování chloroformu? Hustota vody 0,9982 g cm⁻³, koeficient tepelné roztažnosti chloroformu $\beta = 1,28 \text{ K}^{-1}$, tolerance objemu pro danou třídu přesnosti 0,012 ml.

Příklad 3.7

Ředění roztoků je v analytické praxi velmi běžné. V MS Excelu připravte list, pomocí kterého vypočítáte zředovací faktor f a kombinovanou nejistotu ředění, jestliže zadaný objem roztoku byl pipetován do odměrné baňky, která byla posléze doplněna rozpouštědlem po značku. Uvažujte všechny tři příspěvky nejistoty uvedené v kapitole 6.2.

Příklad 3.8

Jaká bude látková koncentrace roztoku KOH pro titrace v nevodném prostředí a příslušná rozšířená nejistota ($k = 2$), vzniklého rozpuštěním 7,250 g KOH v bezvodém methanolu a doplněním methanolem na objem 1000 ml v odměrné baňce. Při výpočtu nejistoty objemu odměrné baňky uvažujte pouze toleranci objemu a rel. směrodatnou odchylku opakovatelnosti doplnění odměrné baňky po značku 0,2 %.

Příklad 3.9

Jaká je látková koncentrace chloridu sodného v roztoku obsahujícího v 500 mL odměrné baňce 12,50 g NaCl? Jaká je nejistota koncentrace? Při výpočtu nejistoty objemu odměrné baňky uvažujte pouze toleranci objemu a rel. směrodatnou odchylku opakovatelnosti doplnění odměrné baňky po značku 0,2 %. Relativní nejistota vážení byla stanovena při kalibraci vah a činí 1 %.

Příklad 3.10

Kalibrační roztok pesticidu v methanolu je připravován ze zásobního roztoku desetinásobným naředěním methanolem a to přenesením 10 ml podílu dělenou pipetou do 100 ml odměrné baňky. Dodavatel udává koncentraci zásobního roztoku rovnu 1000 ± 2 mg/l. Teplota v laboratoři kolísá v rozmezí 3 stupňů okolo 20 °C, koef. roztažnosti methanolu je $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ K}^{-1}$, údaje výrobce o toleranci odměrného nádobí ($\pm a$) a výsledky experimentů stanovení opakovatelnosti (s_{n-1}) doplnění nádobí po značku vážením shrnuje následující tabulka.

	V / mL	tolerance / mL	opakovatelnost doplnění / mL
pipeta	10	0,02	0,012
odměrka	100	0,1	0,024

Vypočtete koncentraci pesticidu v kalibračním roztoku včetně rozšířené nejistoty ($k=2$).

Příklad 3.11

Stanovení peroxidu vodíku probíhá podle následujícího experimentálního schématu: Navážka 10 g kapalného vzorku se převede do 100 mL odměrné baňky a doplní se po značku- Odpipetuje se 10 mL alikvotního podílu, zředí asi na 50 mL v titrační baňce a titruje se roztokem KMnO_4 do slabě růžového zbarvení.

Při odhadu nejistot předpokládejte, že objemové operace (doplňování odměrné baňky, pipetování) mají relativní standardní nejistotu 0,2%. Nejistota spotřeby titračního činidla činí 1 kapku, tj. 0,05 mL. Nejistota koncentrace titračního činidla je 0,3 %. Hmotnostní operace má nejistotu 0,0001 g.

Experimentální data jsou uvedena v tabulce.

		x_i	$u(x_i)$	rsu
navážka	m_v [g]	10	0,0001	
objem 100	V_{100} [mL]	100		0,20%
objem pipety	V_{10} [mL]	10		0,20%
konec titrace	V_{MnO_4} [mL]	17,65	0,05	
konc. KMnO_4	c_{MnO_4} [mol/L]	0,02	0,00006	0,30%
mol. hmotnost	$M_{\text{H}_2\text{O}_2}$ [g/mol]	34,01468	0,000436	

Sestavte rovnici měření a vypočítejte hmotnostní obsah peroxidu vodíku spolu s rozšířenou nejistotou ($k = 2$).

Příklad 3.12

Vypočítejte kombinovanou nejistotu absorbance při měření na spektrometru, jehož instrumentální správnost a reprodukovatelnost byly získány od výrobce jako tolerance a jejich hodnoty byly 0,005 pro správnost a 0,002 pro reprodukovatelnost.

Opakovaným měřením absorbancí referenčního roztoku chromanu draselného v alkalickém prostředí byly získány následující hodnoty.

č. měření	A
1	0,254
2	0,258
3	0,251
4	0,254
5	0,253
6	0,257
7	0,256
8	0,250
9	0,256
10	0,255

Příklad 3.13

Titračním stanovení Mn v certifikovaném referenčním materiálu oceli o obsahu 0,67% Mn byly při opakovaném stanovení nalezeny hodnoty, které jsou uvedeny v tabulce.

č. stanovení	w (Mn),%
1	0,69
2	0,68
3	0,7
4	0,67
5	0,67
6	0,69
7	0,66
8	0,68
9	0,67
10	0,68
11	0,68
12	0,67
13	0,69

Obsah manganu v certifikovaném referenčním materiálu byl $w_{CRM}(Mn) = 0,67\%$ a standardní nejistota $U_{CRM} = 0,01\%$.

a) Jaká je směrodatná odchylka opakovatelnosti?

b) **Výtěžnost metody R** je definována jako poměr výsledku analýzy (aproximovaný aritmetickým průměrem) a certifikovanou hodnotou. Pokud se výtěžnost statisticky významně neliší od 1, není metoda zatížena systematickou chybou. Vypočtěte výtěžnost metody stanovení Mn a určete nejistotu výtěžnosti. Testujte, zda se výtěžnost systematicky liší od hodnoty 1 (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$).

Návod: Testujte hypotézu $H_0: \mu = \mu_0$ v kapitole 3.2.

7. Nejistota lineární regrese

7.1 Metoda kalibračních roztoků – lineární regrese

Metoda kalibračních roztoků je založena na přípravě série roztoků o známém vzrůstajícím obsahu analytu a získání signálů metody při měření každého kalibračního roztoku. Ve většině případů popisujeme závislost $y_i = f(x_i)$ lineární závislostí a parametry b_1 , b_0 lineární regresní funkce

$$y = b_1 \cdot x + b_0 \quad (\text{rovnice 7.1})$$

Ize získat vyhodnocením n dvojic koncentrací analytu v kalibračním roztoku (x_i) a signálů metody (y_i) metodou nejmenších čtverců.⁴ Jsou definovány jako

$$b_1 = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad (\text{rovnice 7.2})$$

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - b_1 \sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (\text{rovnice 7.3})$$

V MS Excelu lze použít funkci **=slope(hodnoty_y; hodnoty_x)** pro výpočet směrnice (b_1) a **=intercept(hodnoty_y; hodnoty_x)** pro výpočet úseku (b_0).

Hledanou koncentraci analytu ve vzorku (x_{vz}) vypočítáme úpravou rovnice 7.1

$$x_{vz} = \frac{y_{vz} - b_0}{b_1}$$

a nejistotu u_x získáme dosazením do vztahu

⁴ Správně bychom měli testovat hypotézu, že získané hodnoty signálů y_i odpovídají lineárnímu modelu kalibrační závislosti.

$$u_x = \frac{s_{yx}}{b_1} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y} - y_{vz})^2}{b_1^2 \cdot Q_{xx}}} \quad (\text{rovnice 7.4})$$

kde

s_{yx} je směrodatná odchylka regresní hodnoty y_{reg} , kterou v MS Excelu vypočítáme funkcí **=steyx(hodnoty_y; hodnoty_x)**

n je počet kalibračních roztoků

N je počet opakování analýzy roztoku vzorku

\bar{y} je průměrná hodnota signálů y_i , tedy $\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$

y_{vz} je (průměrná) hodnota signálu při měření vzorku

Q_{xx} je definovaný jako

$$Q_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Tuto hodnotu lze vypočítat jako

$$Q_{xx} = n \cdot \text{varpa}(\text{hodnoty_x})$$

kde n je počet experimentálních hodnot a **=varpa(hodnoty_x)** je funkce MS Excelu, jejímž výsledkem je hodnota rozptylu základního souboru.

7.2 Standardní přídavek

Metoda přídavku standardu je založena na měření signálu metody při analýze roztoku vzorku a na porovnání se signálem při měření roztoku tvořeného vzorkem a známým množstvím přidaného standardního roztoku.

7.2.1 Jeden přídavek standardu

Metoda „jednoho roztoku“ se provádí zjištěním signálu, který odpovídá roztoku vzorku, následným přidáním známého množství analytu přímo do tohoto roztoku a změřením signálu takto upraveného roztoku.

Metoda „dvou roztoků“ se provádí paralelním měřením dvou roztoků o stejném objemu, které obsahují stejné množství roztoku vzorku, pouze ke druhému roztoku se přidá známé množství analytu a teprve potom se odměrná baňka doplní po rysku.

Podle konkrétního provedení se sestaví rovnice měření a z ní se vypočítá kombinovaná nejistota vypočítané hodnoty koncentrace analytu ve vzorku. Nejjednodušeji Kragtenovým algoritmem.

7.2.2 Více standardních roztoků – lineární regrese

Připraví se série roztoků o stejném objemu. Do všech odměrných baněk se dá stejné množství vzorku a do druhé a dalších baněk se přidá vzrůstající množství standardního roztoku analytu. Regresní rovnici 7.1 lze přepsat do tvaru

$$y_{reg} = b'_1 \frac{c_x V_x + c_s V_s}{V} + b'_0$$

ze kterého lze algebraickými úpravami vyjádřit závislost signálu na objemu přidaného standardního roztoku

$$y_{reg} = \underbrace{b'_1 \frac{c_x V_x}{V} + b'_0}_{b_0} + \underbrace{b'_1 \frac{c_s}{V}}_{b_1} \cdot V_s = b_0 + b_1 \cdot V_s \quad (\text{rovnice 7.5})$$

Připraví se série roztoků obsahujících stejné množství roztoku vzorku a vzrůstající množství standardního roztoku analytu, metodou nejmenších čtverců se vyhodnotí parametry b_0 a b_1 a vypočítá se hledaná koncentrace analytu ve vzorku c_x .

Z jejich definice (rovnice 7.5) vyplývá, že

$$b'_1 = b_1 \frac{V}{c_s} \quad (\text{rovnice 7.6})$$

$$c_x = \frac{b_0 - b'_0}{b'_1 V_x} \cdot V = \frac{c_s}{V_x} \frac{(b_0 - b'_0)}{b_1} \quad (\text{rovnice 7.7})$$

Hodnota b'_0 odpovídá absorpanci slepého pokusu. Provedeme-li korekci dat na signál slepého pokusu, je $b'_0 = 0$ a rovnice 7.7 přechází na tvar

$$c_x = \frac{c_s \cdot b_0}{V_x \cdot b_1} \quad (\text{rovnice 7.8})$$

Nejistota vypočítané hodnoty c_x se vypočítá podle vztahu:

$$u_c = \frac{c_x \cdot u_v}{b_0 / b_1}$$

kde

$$u_v = \frac{s_{yx}}{b_1} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{b_1^2 \cdot Q_{xx}}}$$

je standardní nejistota objemu (odpovídajícího nulovému signálu $y_{\text{reg}}=0$), který byl určen pomocí regresní rovnice 7.5.

PŘÍKLADY NA PROCVIČENÍ 4

Příklad 4.1

Jednobodovou kalibrací s certifikovaným referenčním materiálem (CRM) byl stanoven obsah analytu v neznámém vzorku. Obsah analytu v hmotnostních procentech v CRM včetně standardní nejistoty byl $(3,50 \pm 0,07) \%$. Hodnota signálů při analýze CRM, při analýze vzorku a při analýze srovnávacího roztoku neobsahujícího analyt (blank) byla: $y_{\text{CRM}} = 0,293$; $y_{\text{VZ}} = 0,186$; $y_{\text{blank}} = 0,007$. Kombinovaná nejistota signálu byla $u(y) = 0,005$. Vypočítejte obsah manganu ve vzorku včetně rozšířené nejistoty ($k = 2$).

Příklad 4.2

Obsah manganu v kyzových výpalcích byl stanoven polarograficky metodou srovnání se standardem. Do roztoku upraveného pro polarografické měření bylo převedeno 2,500 g vzorku a objem doplněn na 250 ml. Výška vlny manganatých iontů činila 36 mm. Stejným způsobem byl ze stejně velké navážky připraven roztok standardu s obsahem manganu 0,53 %, dávající vlnu o výšce 43 mm. Vypočítejte obsah Mn spolu s rozšířenou nejistotou ($k = 2$).

Při validaci polarografické metody byly zjištěny tyto standardní nejistoty, resp. relativní standardní nejistoty vstupních veličin: $r_{s(\text{objemové operace})} = 0,2 \%$; $r_{s(\text{analytický signál (výška píku)})} = 2 \%$; $u(\text{hmotnost}) = 0,1 \text{ mg}$, $r_{s(\text{Mn ve standardu})} = 0,5 \%$.

Příklad 4.3

Kalibrační závislost je dána v následující tabulce.

x [mg/L]	y
1,03	0,169
2,22	0,317
3,15	0,473
4,14	0,625
5,49	0,821

Vypočítejte koncentraci analytu v neznámém vzorku a její standardní nejistotu, jestliže při analýze vzorku měl instrumentální signál hodnotu 0,512.

Příklad 4.4

Obsah glukózy ve vzorku vína byl stanovován enzymaticky se spektrofotometrickou detekcí. Do odměrných baněk o objemu 5 mL bylo odpipetováno vždy 200 μL standardního roztoku glukózy o různé koncentraci nebo vzorek vína, bylo přidáno stejné množství roztoku enzymu a banka byla doplněna po rysku tlumivým roztokem. Naměřená data pro kalibrační závislost jsou uvedena v tabulce

c [mmol/L]	0,000	0,050	0,100	0,200	0,400	0,600	0,800
A	0,000	0,057	0,119	0,221	0,383	0,599	0,730

Zkoumaný vzorek vína byl stejným způsobem analyzován třikrát.

	1	2	3
A_x	0,253	0,243	0,238

Vypočítejte koncentraci glukózy ve vzorku včetně její standardní nejistoty.

Příklad 4.5

Stanovení isooktanu ve směsi uhlovodíků bylo provedeno chromatografickou metodou. V tabulce jsou kalibrační data, tj. závislost plochy odpovídajícího píku na obsahu isooktanu (mol %). Vypočítejte obsah isooktanu v neznámém vzorku spolu s rozšířenou nejistotou, jestliže průměrná plocha píku při analýze neznámého vzorku (4 stanovení) měla hodnotu 2,65.

mol% isooktanu	plocha píku, A
0,352	1,09
0,803	1,78
1,08	2,6
1,38	3,03
1,75	4,01

Příklad 4.6

Koncentrace síranových iontů v přírodních vodách se stanovuje turbidimetrickou metodou. Ke vzorku vody se přidá přebytek barnatých iontů, pH se upraví na hodnotu 5 a po 20 minutách se měří zákal BaSO₄ v turbidimetru. Instrument se kalibruje standardním roztokem Na₂SO₄. Kalibrační data jsou uvedena v tabulce.

$\rho(\text{SO}_4)$, mg/L	Y, a.u.
0,00	0,06
5,00	1,48
10,00	2,28
15,00	3,98
20,00	4,61

Vypočítejte koncentraci síranových iontů ve vzorku vody spolu s kombinovanou nejistotou, jestliže instrumentální signál měl hodnotu 3,67 (průměr ze 6 opakování).

Příklad 4.7

Vzorek krve o objemu 5,00 mL byl obohacen o 0,5 μL 1% (v/v) vodného roztoku propanolu jako vnitřního standardu. 10 μL směsi bylo dávkováno do plynového chromatografu a byly zaznamenány plochy píků ethanolu (A(EtOH)) a propanolu (A(PrOH)). Standardní roztoky o známém obsahu (% (m/V)) ethanolu byly zpracovány stejným způsobem. Získaná data a vypočítané poměry ploch jsou v tabulce. Vypočítejte koncentraci ethanolu ve vzorku a její nejistotu.

$w_{\%}(\text{EtOH})$	A(EtOH)	A(PrOH)	A(EtOH)/A(PrOH)
0,02	114	457	0,249
0,05	278	449	0,619
0,10	561	471	1,191
0,15	845	453	1,865
0,20	1070	447	2,394
vzorek	782	455	1,719

Příklad 4.8

Při polarografickém stanovení zinku ve slitině hořčíku byla použita metoda přidavku standardu s jedním roztokem. Vzorek slitiny o hmotnosti 1,0000 g byl rozpuštěn v kyselině chlorovodíkové a roztok byl upraven a doplněn na 250 mL. K 10 mL roztoku, poskytujícího vlnu výšky 37,0 mm, byly přidány 2,00 mL standardního roztoku síranu zinečnatého, $c(\text{Zn}) = 5,00 \cdot 10^{-3}$ mol/L, a po provedení elektrolýzy byla naměřena výška vlny 63,0 mm. Vypočítejte hmotnostní obsah Zn včetně rozšířené nejistoty.

Při validaci polarografické metody byly zjištěny tyto standardní nejistoty, resp. relativní standardní nejistoty vstupních veličin: $r_{s(u)}$ (objemové operace) = 0,2 %; $r_{s(u)}$ (analytický signál (výška píku)) = 2 %; u (hmotnost) = 0,1 mg, $r_{s(u)}$ (koncentrace standardu) = 0,5 %.

Příklad 4.9

Obsah Ni v hliníkové slitině byl stanoven polarograficky metodou přidavku standardu se dvěma roztoky. K jednomu ze dvou roztoků připravených souběžně rozpuštěním 1,0000 g slitiny bylo přidáno 20 mL roztoku síranu nikelnatého, $c(\text{Ni}) = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Po úpravě roztoku k polarografování byly objemy doplněny na 100 mL. Vlna nikelnatých iontů ve vzorku měla výšku 37,5 mm, vlna s přidavkem byla 60,0 mm vysoká. Vypočítejte hmotnostní obsah Ni [%].

Při validaci polarografické metody byly zjištěny tyto standardní nejistoty, resp. relativní standardní nejistoty vstupních veličin: $r_{s(u)}$ (objemové operace) = 0,2 %; $r_{s(u)}$ (analytický signál (výška píku)) = 2 %; u (hmotnost) = 0,1 mg, $r_{s(u)}$ (koncentrace standardu) = 0,5 %, $R_{s(u)}$ (opakovatelnosti) = 1 %.

Příklad 4.10

Obsah vápníku v říční vodě byl stanoven použitím AAS metodou vícenásobného standardního přidavku. Čtyři 25 ml alikvotní podíly vzorku byly odpipetovány do 50 ml odměrných baněk, byly přidány přidavky standardu o koncentraci 2,5 mg/L o objemech 0; 1,00; 2,00; 3,00 a roztoky byly doplněny na 50 mL. Absorbance měřených roztoků byly 0,101; 0,176; 0,238; 0,310. Vypočítejte hmotnostní koncentraci Ca ve vzorku včetně standardní nejistoty.

Příklad 4.11

Chrom se ve vodných roztocích stanovuje metodou AAS. Postupuje se tak, že do 5 odměrných baněk o objemu 50 mL se postupně pipetuje 10 mL vzorku vody, do 4 z nich se potom přidají různé objemy standardního roztoku chromité soli o koncentraci 12,2 mg/L. Po doplnění se změří instrumentální signál (absorbance). Výsledky jsou uvedeny v tabulce.

$V_{\text{st},i}$ (mL)	A_i
0,00	0,201
10,00	0,292
20,00	0,378
30,00	0,467
40,00	0,554

Vypočítejte koncentraci Cr ve vzorku spolu s kombinovanou nejistotou.

Příklad 4.12

Obsah stříbra se ve fotografických odpadech stanovuje metodou AAS. Byla použita metoda standardního přidavku a data jsou shrnuta v tabulce.

$\rho(\text{Ag})$ přidané do vzorku, $\mu\text{g/L}$	A
0	0,32
5	0,41
10	0,52
15	0,6
20	0,7
25	0,77
30	0,89

Vypočtete koncentraci Ag spolu s rozšířenou nejistotou.

Příklad 4.13

Obsah analytu ve vzorku byl stanoven metodou standardního přídávku. Do 5 odměrných baněk o objemu 50 mL bylo odpipetováno 10 mL vzorku. Ve čtyřech baňkách vzrostla koncentrace přídávkem standardního roztoku na hodnoty uvedené v tabulce. Uvedeny jsou také naměřené hodnoty absorpance jednotlivých roztoků.

ρ [mg{L}]	Y [a.u.]
0	0,811
25	0,998
50	1,135
75	1,331
100	1,459

Vypočtete koncentraci analytu spolu s kombinovanou nejistotou.

8. Odhad meze detekce

Mez detekce (angl. *limit of detection* - LOD) analytu je nejnížší množství analytu ve vzorku, které jsme schopni detekovat, ale které není nutně kvantifikovatelné jako exaktní hodnota. Existuje celá řada způsobů jejího stanovení⁵. Mezi nejčastěji používané patří odhad variability měření slepého pokusu

- vyhodnocením opakovaných měření slepého vzorku
- extrapolací dat lineární kalibrační závislosti, přičemž předpokladem je, že ke kalibraci byly použity standardy stejného matricového složení jako reálné vzorky a že první kalibrační bod (x_1) leží v blízkosti LOD – platí nerovnost $0,5 \cdot x_1 < x_{LOD} < x_1$

8.1 Odhad LOD z opakovaných měření slepého vzorku

Za mez detekce se považuje koncentrace, jejíž signál splňuje podmínku

$$y_{LOD} = \bar{y} + 3 \cdot s_{n-1} \quad (\text{rovnice 8.1})$$

kde \bar{y} a s_{n-1} jsou aritmetický průměr a výběrová směrodatná odchylka, které získáme vyhodnocením opakovaných měření slepého pokusu. Hodnotu x_{LOD} (c_{LOD}) potom vypočítáme z rovnice 7.1, pokud lze důvodně předpokládat, že tato lineární závislost platí při těchto nízkých koncentracích.

8.2 Odhad LOD z kalibrační závislosti

Statisticky vhodnější odhad LOD je založen na vyhodnocení celé kalibrační závislosti metodou intervalových odhadů.

Definuje se **kritická hodnota** y_k pro hodnocení výsledku měření (analyt je nebo není přítomen) jako úroveň odezvy, pro kterou je pravděpodobnost výskytu chyby I. druhu α (hypotéza zamítnuta, ale přitom platí) zvolena na určité úrovni – obvykle $\alpha = 0,05$. Mezi detekce

⁵ Podrobněji viz Kvalimetrie, 7. Validace analytických metod., Suchánek, Plzák, Šubrt, Koruna, Praha: EURACHEM-ČR, 1997

(LOD) se pak nazývá úroveň odezvy (či její odpovídající koncentrace), pro níž je pravděpodobnost chyby II. druhu β (hypotéza potvrzena, ale ve skutečnosti neplatí) zvolena na určité úrovni, obvykle $\beta = 0,05$.

Rovnice 7.4 definuje závislost nejistoty vypočítané hodnoty nezávisle proměnné (např. koncentrace) (podle rovnice 7.3) na signálu metody (y_{vz}). Pro nejistotu nulové koncentrace u_{x0} platí, že signál je roven úseku na ose y , tedy $y_{vz} = b_0$, a rovnici 7.4 lze přepsat pro tento případ ($N = 1$) do tvaru

$$u_{x0} = \frac{s_{yx}}{b_1} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{1} + \frac{(\bar{y} - b_0)^2}{b_1^2 \cdot Q_{xx}}} = \frac{s_{yx}}{b_1} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad (\text{rovnice 8.2})$$

Za kritickou hodnotu se považuje hodnota signálu, pro kterou platí

$$y_k = b_0 + t_{1-\alpha; n-2} \cdot b_1 \cdot u_{x0} \quad (\text{rovnice 8.3})$$

kde b_0 , b_1 jsou parametry lineární závislosti

$t_{1-\alpha; n-2}$ je kritická hodnota Studentova rozdělení pro jednostrannou hypotézu a $n-2$ stupňů volnosti

n je počet kalibračních bodů

u_{x0} je nejistota koncentrace, které odpovídá nulová koncentrace

Dosazením rovnice 8.2 do rovnice 8.3 dostáváme

$$y_k = b_0 + t_{1-\alpha; n-2} \cdot s_{yx} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad (\text{rovnice 8.4})$$

Mez detekce (LOD) je potom definována jako hodnota obsahu analytu odpovídající kritickému signálu. Platí tedy

$$y_{\text{krit}} = b_0 + b_1 \cdot \text{LOD}$$

a odtud

$$X_{\text{LOD}} = \frac{t_{1-\alpha;n-2} \cdot s_{yx}}{b_1} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad (\text{rovnice 8.5})$$

PŘÍKLADY NA PROCVIČENÍ 5

Příklad 5.1

V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty kalibrační závislosti signálu detektoru (ploch píků) na koncentraci analytu při chromatografickém stanovení.

c	S
0,10	1815
0,20	3750
0,30	5100
0,40	6920
0,50	8865

Jestliže aritmetický průměr signálu základní linie (šum) byl $N=1500$, vypočítejte mez detekce tohoto stanovení.

Příklad 5.2

Opakovaným měřením tří kalibračních bodů byla získána následující kalibrační data.

ρ [ng/mL]	y_{exp}							
4	0,030	0,032	0,033	0,029	0,030	0,028	0,031	0,030
10	0,045	0,048						
20	0,078	0,075	0,076					

Odhadněte mez detekce na hladině spolehlivosti 95 %.

9. Statistické funkce v MS Excel - shrnutí

normální rozdělení

=normdist(x; μ; σ; 1)	hodnota distribuční funkce rozdělení $N(\mu, \sigma^2)$ v bodě x
normsdist(z_y)	hodnota distribuční funkce rozdělení $N(0, 1)$ v bodě z_y
normsinv(z_p)	p.100% kvantil rozdělení $N(0,1)$

statistika opakovaných výsledků

=tinv(hladina významnosti; počet stupňů volnosti)	kritická hodnota Studentova rozdělení pro oboustranný interval
smodch.výběr(hodnoty_x)	výběrová směrodatná odchylka
průměr(hodnoty_x)	aritmetický průměr
počet(hodnoty_x)	počet hodnot

lineární regrese

intercept(hodnoty_y; hodnoty_x)	úsek na ose y (lin. regrese)
slope(hodnoty_y; hodnoty_x)	směrnice přímky (lin. regrese)
steyx(hodnoty_y; hodnoty_x)	směrodatná odchylka regresní hodnoty
varpa(hodnoty_x)	rozptyl základního souboru*n

10. Tolerance odměrného nádobí⁶

Odměrné baňky ČSN ISO 1042 (1994)

Jmenovitý objem (cm ³)	Největší dovolená chyba objemu (cm ³)	
	třída A	třída B
5	± 0,025	± 0,05
10	± 0,025	± 0,05
25	± 0,04	± 0,08
50	± 0,06	± 0,12
100	± 0,10	± 0,20
200	± 0,15	± 0,30
250	± 0,15	± 0,30
500	± 0,25	± 0,50
1000	± 0,40	± 0,80
2000	± 0,60	± 1,20

Nedělené pipety ČSN 70 4119 (1986)

Jmenovitý objem (mL)	Povolená tolerance (mL)	
	Třída přesnosti A	Třída přesnosti B
0,5	0,005	0,01
1	0,008	0,015
2	0,01	0,02
5	0,015	0,03
10	0,02	0,04
20	0,03	0,06
25	0,03	0,06
50	0,05	0,1
100	0,08	0,15
200	0,1	0,2

⁶ http://eurachem.upol.cz/user-files/files/nj_objemym1.xls

Dělené pipety ČSN 70 4120 (1986)

<i>Jmenovitý objem</i> (mL)	<i>Hodnota dílku</i> (mL)	<i>Povolená tolerance pro celkový objem nebo každý dílčí objem pipet (mL)</i>	
		<i>Třída přesnosti A</i>	<i>Třída přesnosti B</i>
1	0,01	0,006	0,01
2	0,02	0,01	0,02
5	0,05	0,03	0,05
10	0,1	0,05	0,1
25	0,1	0,1	0,2
25	0,2	-	0,2

Byrety, mikrobyrety DIN 12700, ČSN 704130

<i>Jmenovitý objem</i> (mL)	<i>Dělení objemu</i> (mL)	<i>Povolená tolerance pro celkový objem nebo každý dílčí objem pipet (mL)</i>	
		<i>Třída přesnosti A</i>	<i>Třída přesnosti B</i>
1	0,01	0,01	
2	0,01	0,01	
5	0,02	0,01	
10	0,05	0,03	0,05
25	0,1	0,05	0,1
50	0,1	0,08	0,1
100	0,2	0,12	0,2

11. Seznam použité literatury

KVALIMETRIE 13 Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Kolektiv autorů, ed. M. Suchánek, EURACHEM-ČR 2003, ISBN 80-86322-02-5.

KVALIMETRIE 7. Validace analytických metod. Kolektiv autorů, ed. M. Suchánek. EURACHEM-ČR 1998, ISBN 80-901868-4-X

Aplikovaná statistika, J. Pavlík a kol., skripta VŠCHT, 2005

Analytická chemie II. Volka a kol., skripta VŠCHT, 1997