

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАФЕДРА ГИГИЕНЫ И МЕДИЦИНСКОЙ ЭКОЛОГИИ

Т.В. Башун Л.Л. Бельшева С.Ф. Фурс

**ПОСТРОЕНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОЙ
ХАРАКТЕРИСТИКИ И РАСЧЕТ ЕЕ
НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ
САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Учебно-методическое пособие

Минск БелМАПО
2015

УДК 613/614:54.08(075.9)

ББК 51.20я73

Б 33

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия
НМС Белорусской медицинской академии последипломного образования
протокол № 8 от 25.11.2015.

Авторы:

Т.В.Башун, Л.Л.Бельшева, С.Ф.Фурс

Рецензенты:

Кафедра общей гигиены БГМУ

Заведующий лабораторией химии пищевых продуктов РУП «Научно-практический центр гигиены», кандидат химических наук О.В. Шуляковская

Башун Т.В.

Б 33

Построение градуировочной характеристики и расчет ее неопределенности при проведении санитарно-гигиенических лабораторных исследований: учеб-метод. пособие /Т.В. Башун, Л.Л. Бельшева, С.Ф. Фурс. – Минск: БелМАПО, 2015.- 24с.

ISBN 978-985-499-964-7

В учебно-методическом пособии описан порядок построения градуировочной характеристики и расчет ее неопределенности при проведении санитарно-гигиенических лабораторных исследований с помощью методов математической статистики.

Предназначено для врачей-лаборантов центров гигиены и эпидемиологии, а также специалистов испытательных лабораторий.

УДК 613/614:54.08(075.9)

ББК 51.20я73

ISBN 978-985-499-964-7

© Башун Т.В., [и др.], 2015

© Оформление БелМАПО, 2015.

Введение

В современных сложных технологических процессах и анализах рациональная организация контроля качества должна базироваться на хорошо поставленной аналитической службе, широко использующей в своей работе методы математической статистики. Это связано с тем, что сегодня надо учитывать целый ряд факторов: пробоотбор, технически и экономически обоснованные требования к точности и чувствительности, разумный выбор числа параллельных определений, способы контроля за самопроизвольным смещением результатов анализа во времени. В связи с этим, желательное объективное суждение о надежности метода анализа или о полноте результатов анализа в состоянии дать только методы математической статистики.

Химика-аналитика в первую очередь интересуется, как он может с пользой применить методы математической статистики для своих целей. Известно, что только статистика полностью предохраняет от недооценки или переоценки результатов и тем самым помогает осмысленно интерпретировать данные анализа.

Методы математической статистики являются общепринятыми, а их справедливость общепризнанна.

Однако, статистика имеет свои границы. Она не может дать для специальных единичных случаев соответствующие специальные сведения. Статистика дает сведения лишь с заданной или оговоренной вероятностью и риском соответствующей ошибки. Неправильно проведенный анализ не может дать при помощи статистики надежный результат. Методы математической статистики не могут заменить аналитику критический склад ума, но, вероятно, они могут оказать эффективную помощь.

Настоящее методическое пособие посвящено построению градуировочной характеристики, а также расчету ее неопределенности при проведении санитарно-гигиенических лабораторных исследований с помощью методов математической статистики.

1. Виды ошибок в аналитической химии

При анализе пробы аналитик обычно проводит несколько параллельных определений. При этом отдельные результаты этих определений должны лежать как можно ближе друг к другу и соответствовать истинному содержанию пробы. Следовательно, существуют два фактора, по которым аналитик судит о своих результатах:

- 1) воспроизводимость полученных результатов;
- 2) соответствие их содержанию пробы.

Воспроизводимость зависит от *случайной ошибки метода* анализа. Чем больше случайная ошибка, тем больше разброс значений при повторении анализа, тем меньше *точность метода* анализа.

Отклонения от истинного содержания пробы вызываются *систематической ошибкой*. Метод анализа лишь тогда может дать правильные значения, когда он свободен от систематических ошибок. Случайные ошибки делают неточным результат анализа, систематические ошибки делают неверным сам анализ. Итак, *воспроизводимость* или *точность* и *правильность* метода анализа следует рассматривать порознь.

Появляющиеся в аналитической химии случайные и систематические ошибки можно объяснить разными причинами. При этом обычно принимают во внимание следующие соображения:

1) большинство исследуемых веществ надо рассматривать как неоднородные. Поэтому отдельные небольшие части пробы имеют неодинаковый состав. По этой же причине результаты анализа также будут иметь случайные колебания. Вследствие неправильного одностороннего отбора проб может быть отдано предпочтение отдельной составной части, что повлечет за собой систематическое изменение состава пробы;

2) все необходимые для анализа величины, такие, например, как масса осадка или экстинкция окрашенного раствора, можно установить только с ограниченной точностью. Это определяется использованным методом

измерений, величиной, подлежащей измерению, а часто и субъективными влияниями. Если исключить влияние неправильно отрегулированных измерительных приборов, то ошибки измерений появляются в основном в форме случайных отклонений. Должным подбором условий измерений эти ошибки следует сводить к минимуму;

3) особенно при классических анализах исследуемые пробы подвергают химической обработке и продукты реакции характеризуют по виду и массе. Все эти реакции следует считать равновесными процессами, при которых равновесие стремятся сдвинуть как можно дальше в направлении получения продуктов реакции. Несмотря на это, в ходе реакций появляются как случайные ошибки (например, изменение растворимости вследствие различных концентраций средней соли), так и систематические ошибки (например, явление соосаждения). Задачей аналитика является выбор реакций, наиболее пригодных для соответствующей цели.

Если отбросить ошибку, вводимую при отборе пробы, как не относящуюся непосредственно к методу анализа, то общая ошибка состоит из ошибок измерения и ошибок, вызываемых химической реакцией. В общем, ошибки измерения должны быть меньше, чем ошибки метода. В то время как ошибки измерения можно оценивать обсуждением ошибки, постоянно совершаемой при физических исследованиях, для ошибки метода этого сделать нельзя или можно сделать только в виде исключения. Описание этой ошибки и общей ошибки можно дать только с привлечением методов математической статистики.

Эти методы исходят из идеализированного представления о бесконечно большом числе измерений. Это множество результатов измерений называют *генеральной совокупностью*. Из нее выводят закономерность для процессов, кажущихся наблюдателю чисто случайными. Однако при практических измерениях всегда имеется очень ограниченное число значений. Они образуют выбор конечного объема из генеральной совокупности, называемый *выборкой*. Выборку следует брать так, чтобы возможно лучше охарактеризовать

(представить) генеральную совокупность. Эта цель достигается тем лучше, чем больше объем выборки и чем удачнее сделан случайный отбор отдельных измерений.

Также принципиально важно, чтобы правильно взятая выборка имела лишь случайные отличия от генеральной совокупности. Эти случайности и вероятность их появления можно описать при помощи математической статистики. По измерениям, сделанным на выборках, можно дать сведения о поведении генеральной совокупности. Поэтому из конечного числа значений можно сделать вывод о случайной ошибке примененного метода и предсказать подобные случаи в будущем.

Если внутри серии анализов существенна только случайная ошибка, то результаты беспорядочно рассеиваются внутри небольшой области значений, несмотря на совершенно постоянные условия опыта. Наиболее правильное содержание пробы лежит внутри этой области колебаний. Случайная ошибка может иметь размерность измеряемых величин (например, *мг*, *мг/л* или может быть выражена в процентах). В этом случае говорят об *абсолютной ошибке* измерения. Но случайная ошибка может быть также отнесена к среднему значению измеряемой величины. В этом случае говорят об *относительной ошибке* измерения. При представлении результатов измерения следует иметь в виду, что речь может идти о двух таких возможностях.

Особенно просто можно оперировать абсолютной ошибкой. Она дает непосредственную характеристику достоверности полученного значения. Напротив, относительная ошибка часто является наглядной для характеристики метода анализа из-за ее связи с измеряемым значением.

Систематические ошибки влияют на все измерения всегда в одинаковой степени. При этом истинное значение лежит *вне* области колебаний. Если все значения сдвинуты на одинаковую величину, то говорят о *постоянной ошибке* (например, неизвестное значение «холостого» опыта). Отклонения, которые изменяются с величиной измеряемого значения, называют *изменяющейся ошибкой*. При пропорциональности между значением измерения и величиной

ошибки говорят о *линейно изменяющейся ошибке* (такую ошибку создает, например, неправильный титр при титровании жидкости). Оба вида ошибок могут, естественно, появляться одновременно. Систематические отклонения в основном даются в форме абсолютной ошибки.

Вследствие случайной ошибки значения параллельных определений при анализе беспорядочно рассеиваются вокруг истинного значения пробы. Систематическая ошибка дополнительно сдвигает значения измерений в том или ином направлении. Таким образом, метод дает «неверное значение». Случайные и систематические ошибки совершенно различно отражаются на результатах анализа. Несмотря на это, между обоими видами ошибок существуют определенные зависимости.

Если анализируемую пробу исследуют в различных лабораториях, то в одних лабораториях появляются систематические положительные ошибки различной величины, а в других — систематические отрицательные ошибки различной величины. Эти систематические отклонения явно больше, чем случайная ошибка метода. Так как эти отклонения имеют разную величину и разный знак, они появляются в виде беспорядочного разброса результатов или в виде увеличенной случайной ошибки. Одновременное появление систематических ошибок разной величины и знака также вызывает увеличение случайной ошибки.

Цель всех аналитических исследований — нахождение результата, наиболее близкого к истинному содержанию пробы при помощи найденных значений анализа. Чтобы достигнуть этой цели, при выборе метода анализа мирятся с небольшой систематической ошибкой, в случае если метод дает малую случайную ошибку. Несмотря на небольшой систематический сдвиг результатов, при этом можно получить значение более близкое к истинному содержанию пробы, чем применением метода, который хотя и «правильный», но дает очень большую случайную ошибку.

Все появляющиеся при анализах ошибки — как случайные, так и систематические — можно приписать использованному методу анализа. Кроме

того, на них, например, влияют условия работы в лаборатории или квалификация исполнителей. Ошибки также могут быть подвержены колебаниям времени. При всех исследованиях аналитик должен стремиться получить возможно меньшую случайную ошибку, поддерживая постоянный контроль и постоянно исключая систематические ошибки. Последнее нужно проводить устранением причин ошибок, но не дополнительной корректурой результатов. Рекомендуемыми иногда эмпирическими коррекционными факторами являются средние значения с более или менее большим интервалом колебания, поэтому они слишком мало говорят об особом единичном случае. Кроме того, случайная ошибка всегда увеличивается вследствие «поправки», потому что в этом случае комбинируют два значения с ошибками.

Если необходимо сравнить между собой результаты большего ряда измерений — иногда это обозначается как *относительное измерение*, — то достаточно знать появляющуюся случайную ошибку. Менее важно — содержит ли метод анализа систематическую ошибку. Следует исходить из того, что эта возможная систематическая ошибка не изменяется в период исследований. Поэтому при *абсолютном определении* (например, содержания продажного продукта) следует знать как случайную ошибку, так и то, что систематическая ошибка отсутствует. Правильность метода анализа доказана только тогда, когда два разных метода дают значения, между которыми нет уловимого различия.

Обсуждение ошибок играет решающую роль при планах и оценках химико-аналитических исследований. Поэтому аналитик нуждается в широкой информации о возможных видах ошибок в области его работы. При рассмотрении типов ошибок аналитик при помощи математико-статистических методов получает информацию об имеющемся в его распоряжении числовом материале. Методы математической статистики позволяют использовать «профессиональный материал» для получения ответов на определенно поставленные вопросы, например, может быть поставлен вопрос о сравнении средних значений, об анализе совместных опытов или об определении

систематической ошибки. Задача аналитика — выбрать из различных математико-статистических методов наиболее подходящие для решения поставленной им специальной задачи.

2. Графическое изображение результатов измерений

Во всех точных науках необходимо отыскать и охарактеризовать связь между результатами измерений. Так, инструментальные методы анализа чаще всего требуют калибровки. Задачей аналитика является нахождение калибровочной функции из заданного содержания и измеренных значений и получение из этих данных сведений о точности метода анализа. Нередко константы калибровочной функции имеют тот или иной физико-химический смысл. Полученные для них числовые значения затем следует дополнить соответствующим доверительным интервалом.

Все эти проблемы можно решить при помощи регрессионного анализа. Этот метод применим всегда, если требуется лучше оценить известную заранее зависимость между двумя (или несколькими) переменными. При этом числовые значения независимых переменных x уже заданы перед опытом, а числовые значения зависимых переменных y получаются в ходе опыта. Ошибка значений x несравнимо меньше ошибки значений y . Для каждого значения независимой переменной x должна быть нормально распределена зависимая случайная переменная y . Поэтому для каждого значения x возможно много значений y , а из функции, найденной подсчетом регрессии, нельзя непосредственно получить обратную зависимость.

Измеряя на опыте значения y , отвечающие определенным значениям x , находят соответствующие пары значений x_1 и y_1 ; x_2 и y_2 ; x_3 и y_3 и т.д., которые и служат основой построения кривых. Ввиду того, что эти значения получают в результате измерений, ошибку имеет не только величина y , но и величина x . Хотя и говорят, что y находят при определенных значениях x , однако последние получают также путем измерений, т.е. приближенно. Вследствие

этого, при построении графика нужно считаться с ошибками как y , так и x . В результате следует наносить на график не точки (x_1, y_1) , (x_2, y_2) , (x_3, y_3) и т.д., а небольшие прямоугольники (рис.1), стороны которых равны $(2s_x, 2s_y)$, $(2s'_x, 2s'_y)$, $(2s''_x, 2s''_y)$ или точнее $(2\varepsilon_x, 2\varepsilon_y)$, $(2\varepsilon'_x, 2\varepsilon'_y)$, $(2\varepsilon''_x, 2\varepsilon''_y)$, где s_x, s_y – стандартные отклонения, $\varepsilon_x, \varepsilon_y$ – точность определения x и y .

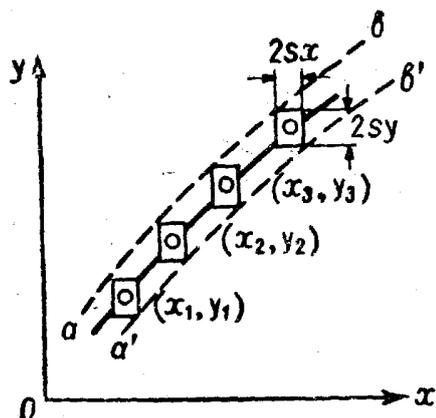


Рис.1. Пределы отклонений, в которых должна проходить кривая, строго отвечающая виду функции $y = f(x)$.

Если провести две параллельные кривые ab и $a'b'$ (см. рис. 1), то кривая, строго отвечающая виду функции $y = f(x)$, может не проходить через экспериментальные точки, однако, она не должна выходить за пределы узкой полосы, ограниченной кривыми ab и $a'b'$.

Графические изображения результатов измерений дают наглядное представление о взаимной зависимости исследуемых величин. Одновременно графики могут служить и для измерительных целей, так как по калибровочному графику можно находить значения одной величины, если значения других величин известны.

Для построения калибровочного графика желательно выбирать зависимость, выражаемую прямой линией, потому что при этом составление графика и пользование им будет наиболее надежным. Например, при спектрофотометрических измерениях предпочтительно строить график концентрация (x) – оптическая плотность (y), а не концентрация – пропускание,

при спектральном анализе пользуются графиком логарифм концентрации (x) – логарифм интенсивности спектральной линии (y), при полярографических измерениях определяют зависимость сила тока (y) – концентрация (x) и т.д. В любом из этих случаев необходимо найти параметры a и b прямой

$$y = a + bx \quad (1)$$

которая лучше всего соответствует результатам анализов, выполненных для серии эталонов или стандартных образцов. Рассчитав числовые значения a и b , экспериментально определяют величину y и по уравнению (1) рассчитывают x , соответствующие данным значениям y . Если линейная зависимость между y и x нарушается, то следует проверить гипотезу линейности.

Для вычисления параметров a и b , оценки их точности, интервальных значений и для расчета с помощью уравнения (1) неизвестных концентраций в исследуемых объектах применяют приводимые ниже формулы.

Расчет калибровочного графика.

Вычисление коэффициентов регрессии.

Коэффициенты регрессии a и b (или часто их называют угловыми коэффициентами) вычисляют анализируя серию эталонов. Полученные данные могут быть представлены системой уравнений:

$$\begin{aligned} y_1 &= a + bx_1 \\ y_2 &= a + bx_2 \\ &\dots\dots\dots \\ y_i &= a + bx_i \\ &\dots\dots\dots \\ y_n &= a + bx_n \end{aligned} \quad (2)$$

Здесь n – число опытов, x_i – известная концентрация определяемого вещества в i -том эталоне, y_i – результат прямых измерений, связанных с анализом i -го эталона.

При построении калибровочных графиков обычно считают, что величины x_i являются точными результатами или ошибки в определении x_i

Значительно меньше, чем в определении y_i . Так как значения y_i отягчены ошибками измерений, то, строго говоря, ни одна система значений a и b не может удовлетворять всем n уравнениям и задача сводится к отысканию таких значений для параметров a и b , которые бы наилучшим образом удовлетворяли всем уравнениям. Их вычисляют с помощью формул, полученных по способу наименьших квадратов:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad (3)$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad (4)$$

Когда a мало отличается от нуля, то проверяют значимость этой величины. Для этого вычисляют значение $t_a = |a| / s_a$ (где s_a – стандартное отклонение параметра a) и по статистическим таблицам Стьюдента находят вероятность P неравенства $|t| \geq t_\alpha$ (в данном случае $t_a = t_\alpha$) при $k = n - 2$.

Если окажется, что появление величины t_a за счет одних случайных погрешностей маловероятно ($P < 0,05$), то считают, что метод включает систематическую ошибку a . Если же $P > 0,05$, т.е. появление величины t_a в результате случайных погрешностей вероятно, то метод не содержит систематической ошибки и величину a в уравнении $y = a + bx$ можно приравнять к нулю и заново рассчитать угловой коэффициент прямой, проходящей через начало координат:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (5)$$

Расчет дисперсии, точности значения и интервальных значений коэффициентов регрессии.

Определение параметров уравнения a и b по формулам (3) и (4) можно рассматривать как результат косвенных измерений. Поэтому дисперсии вычисляются по формулам:

$$s_a^2 = \left(\frac{\partial a}{\partial y_1}\right)^2 s_1^2 + \left(\frac{\partial a}{\partial y_2}\right)^2 s_2^2 + \dots + \left(\frac{\partial a}{\partial y_n}\right)^2 s_n^2 \quad (6)$$

$$s_b^2 = \left(\frac{\partial b}{\partial y_1}\right)^2 s_1^2 + \left(\frac{\partial b}{\partial y_2}\right)^2 s_2^2 + \dots + \left(\frac{\partial b}{\partial y_n}\right)^2 s_n^2 \quad (7)$$

Полагая, что $s_1^2 + s_2^2 + \dots + s_n^2 = s_y^2$ после преобразований уравнений (6) и (7) получают:

$$s_a^2 = s_y^2 \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (8)$$

$$s_b^2 = s_y^2 \frac{n}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2} \quad (9)$$

Дисперсию, s_y^2 характеризующую рассеяние значений относительно прямой, вычисляют по формуле:

$$s_y^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n - 2} \quad (10)$$

где Y_i – результат для i -го эталона, полученный расчетным путем из уравнения $Y_i = a + bx_i$ по известному значению x_i и параметрам a и b , найденным по приведенным выше формулам.

Если метод не включает систематической ошибки a и прямая проходит через начало координат, то дисперсия параметра b вычисляется по формуле:

$$s_b^2 = \frac{s_y^2}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (11)$$

где

$$s_y^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n-1} \quad (12)$$

Точность значения параметров a и b .

Точность значений a и b рассчитывают по уравнениям:

$$\varepsilon_{\alpha,a} = t_{\alpha} s_a \quad (13)$$

$$\varepsilon_{\alpha,b} = t_{\alpha} s_b \quad (14)$$

Величину t_{α} находят из таблицы Стьюдента при $k = n - 2$ и надежности α .

Если $a = 0$, то при определении точности параметра b значения t_{α} находят при $k = n - 1$.

Интервальные значения параметров a и b .

Интервальные значения параметров a и b вычисляют по формулам:

$$\bar{a} = a \pm t_{\alpha} s_a \quad (15)$$

$$\bar{b} = b \pm t_{\alpha} s_b \quad (16)$$

Число значащих цифр, сохраняемое в конечном результате при вычислении параметров a и b , определяется точностью их значений $\varepsilon_{\alpha,a}$ и $\varepsilon_{\alpha,b}$.

Если для расчетов пользуются не уравнением, а построенным калибровочным графиком, то следует принимать во внимание:

1) графики, которые служат измерительным целям, необходимо вычерчивать с большой точностью и в достаточно большом масштабе (во многих случаях примерно 20 x 25 или 25 x 30 см);

2) если данные разбиты на небольшие группы, то примерно половина точек каждой группы должна лежать по одну сторону кривой, а половина – по другую;

3) если необходимо, чтобы точность отсчетов по графику отвечала точности измерений, то наименьшее расстояние, которое можно отсчитать на графике, должно соответствовать величине ошибки измерений. Так, например, если ошибка отсчетов достигает $\pm 0,5$ мм, то абсолютную ошибку измерений и следует принять равной этой величине (в масштабе). Однако рассмотренное требование далеко не во всех случаях можно выполнить на практике и часто

приходится от него отступать обычно в сторону уменьшения масштаба. Следовательно, отсчеты по графику могут быть менее точными, чем измерения, для которых он составлен.

3. Практическое применение классических подходов расчета графиков регрессии в современных условиях

При выполнении исследований в современных условиях от исполнителя требуется указать степень надежности результата анализа и выразить его в виде неопределенности измерения. Неопределенность измерения – параметр, связанный с результатом измерения и характеризующий рассеяние значений, которые достаточно обоснованно могли бы быть приписаны измеряемой величине. Основной составляющей неопределенности является неопределенность концентрации искомого аналита, найденной по градуировочному графику, которая, в свою очередь, обусловлена построением и использованием градуировочной характеристики с одной стороны, и неопределенностью, обусловленной приготовлением самих градуировочных растворов с другой. В общем виде это можно представить выражением:

$$u_{гр.графика} = \sqrt{u_{гр.х.}^2 + u_{x_i}^2}, \quad (17)$$

где $u_{гр.х.}$ - неопределенность, обусловленная градуировочной характеристикой;

u_{x_i} - неопределенность, обусловленная приготовлением градуировочных растворов.

Неопределенность градуировочной характеристики есть ничто иное, как дисперсия измеренных концентраций градуировочных растворов S_x . В зависимости от того, как проходит градуировочный график относительно нуля

стандартное отклонение может быть рассчитано по формулам 22 (график не проходит через ноль) или 30 (график проходит через ноль).

Также рассчитанное значение S_x для второй точки градуировочного графика используется для расчета норматива стабильности графика (формула 32).

Далее приводится пример расчета градуировочного графика:

- рекомендуемая таблица для представления результатов;
- формулы для расчета;
- пример расчета неопределенности, обусловленной приготовлением градуировочных растворов.

Рекомендуемая таблица для представления результатов.

Таблица 1. Результаты анализа

№ измерения	x_i , мкг/см ³	y_i	Средние значения y_{ic}	$x_i y_i$	Расчетные значения Y_i	$(y_i - Y_i)^2$	Расчетные значения $Y_{оконч.i}$	$(y_i - Y_{оконч.i})^2$	S_x (%)	K (%)
1	1	10,5		10,5						
2	1	10,2	10,27	10,2						
3	1	10,1		10,1						
1	2	20,0		40,0						
2	2	19,5	19,87	39,0						
3	2	20,1		40,2						
1	3	30,3		90,9						
2	3	30,5	30,10	91,5						
3	3	29,5		88,5						
1	4	40,1		160,4						
2	4	40,5	40,03	162,0						
3	4	39,5		158,0						
1	5	50,0		250,0						
2	5	50,5	50,20	252,5						
3	5	50,1		250,5						

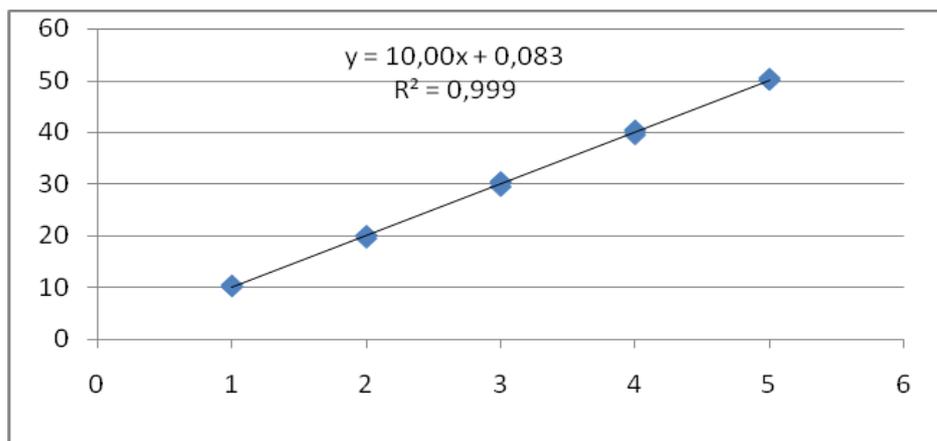


Рис.2. Градуировочный график

Формулы для расчета градуировочного графика

Готовится по три градуировочных раствора каждой концентрации для всего диапазона измерений.

Расчет градуировочного графика проводился методом наименьших квадратов (МНК). Зависимость площади пика от концентрации характеризуется прямой

$$y = a + bx, \tag{18}$$

где: y - площадь пика;

x - концентрация аналита в градуировочном растворе;

a и b - коэффициенты регрессии;

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \quad b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}, \tag{19}$$

где: n – число опытов ($n = 15$);

x_i – концентрация в i -том эталоне;

y_i – значение площади пика для i -того эталона;

Дисперсию S_o , характеризующую рассеяние результатов экспериментальных данных относительно построенной прямой, рассчитывали по формуле:

$$S_o = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n-2}}, \quad (20)$$

где: y_i – опытное значение для i -той точки графика;

Y_i – расчетное (по уравнению $y = a + bx$) значение для i -той точки графика;

n – число опытов ($n = 15$):

Далее проводится проверка значимости коэффициента « a » по зависимости:

$$t_a = \frac{|a|}{S_a}, \quad (21)$$

где расчет стандартного отклонения значения a производится по формуле:

$$S_a = S_o \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}}, \quad (22)$$

где: S_o - остаточное стандартное отклонение значения y_i ;

x_i – концентрация в i -том эталоне;

n – число опытов ($n = 15$).

При $t_a \geq t_{\text{табл}}$, коэффициент « a » - значим, $t_{\text{табл}} = 2,16$ – коэффициент Стьюдента при доверительной вероятности 0,95 и числе наблюдений $f = n - 2 = 15 - 2 = 13$.

Расчет стандартного отклонения для концентрации аналита рассчитывали по формуле:

$$S_x = \frac{S_o}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{p} + \left(\frac{S_b}{b}\right)^2 \times \left(\frac{\bar{Y} - \bar{\bar{Y}}}{S_o}\right)^2}, \quad (23)$$

где: p – количество параллельных определений ($p = 3$)

n – число опытов ($n = 15$);

\bar{Y} - измеренное среднее значение y_i для p параллельных определений;

$\bar{\bar{Y}}$ - среднее значение всех \bar{Y} ;

S_b - стандартное отклонение значения b .

S_b рассчитывали по формуле:

$$S_b = \sqrt{\frac{n \times S_o^2}{n \times \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}}, \quad (24)$$

где: n – число опытов ($n = 15$).

$S_{X(\% \text{ отн})}$ рассчитывали по формуле:

$$S_{X(\% \text{ отн})} = \frac{S_{x_i}}{x_i} \times 100 \quad (25)$$

При $t_a \leq t_{\text{табл}}$, коэффициент « a » - незначим, отклонение свободного члена a от нуля можно считать случайным. Прямая градуировочного графика проходит через начало координат и определяется функциональной зависимостью

$$Y = b X, \quad (26)$$

Угловой коэффициент b для данной прямой рассчитывается по формуле:

$$b_{\text{исп.}} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2}, \quad (27)$$

где: x_i – концентрация аналита в i -том эталоне;

y_i – площадь пика для i -того эталона;

Градуировочный график в окончательном варианте определяется зависимостью:

$$Y_{\text{оконч.}i} = b_{\text{исп.}} x_i, \quad (28)$$

где: $Y_{\text{оконч.}i}$ – рассчитанные по графику площади пика;

x_i – заданное значение концентрации аналита в градуировочном растворе.

Дисперсию S_o , характеризующую рассеяние результатов экспериментальных данных относительно построенной прямой, рассчитывали по формуле:

$$S_o = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{Y}_{\text{оконч.}i})^2}{n-1}}, \quad (29)$$

где: y_i – значение площади пика для i -того измерения;

$\hat{Y}_{\text{оконч.}i}$ – рассчитанное по графику значение площади пика;

n – число опытов ($n = 15$);

Расчет стандартного отклонения для концентрации аналита проводили по формуле:

$$S_x = \frac{S_o}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{\bar{y}^2}{b^2 \sum x_i^2}}, \quad (30)$$

$$S_{X(\% \text{ отн})} = \frac{S_x}{X} \times 100, \quad (31)$$

где: \bar{y} – измеренное среднее значение y для p - параллельных определений ($p = 3$);

p – количество параллельных определений ($p = 3$).

В качестве норматива стабильности градуировочного графика принимали границы погрешности концентрации, определяемой по градуировочному графику.

$$K = \Delta C_x = t_{p,f} \times S_x, \quad (32)$$

$$\text{где: } P = 0,95, \quad f = n - 1 = 14 \quad t_{p,f} = 2,14$$

Оценивание неопределенности $u(x)$, обусловленной отклонением от приписанных исходных значений концентраций градуировочных растворов

$$u(x) = \sqrt{\sum \left(\frac{u(x_i)}{n} \right)^2}, \quad (33)$$

где n – количество градуировочных растворов ($n = 5$);

$$u(x_i) = x_i \sqrt{\sum \left(\frac{u(V_j)}{V_j} \right)^2 + \sum \left(\frac{u(V_p)}{V_p} \right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m} \right)^2 + \left(\frac{u(P)}{P} \right)^2}, \quad (34)$$

где $u(V_j)$ – стандартная неопределенность j -го объема V_j аликвотной части градуировочного раствора, взятой с помощью пипетки для разбавления;

$u(V_p)$ – стандартная неопределенность заполнения объема колбы V_p , при приготовлении градуировочного раствора;

$u(m)$ – стандартная неопределенность массы навески, взятой для приготовления градуировочного раствора;

$u(P)$ – стандартная неопределенность содержания основного действующего вещества олигосахарида, используемого для приготовления градуировочного раствора.

$u(V_j)$ и $u(V_p)$ вычисляли по формулам:

$$u(V_j) = \sqrt{u^2(V_{oj}) + u^2(V_{ij})}, \quad (35)$$

$$u(V_p) = \sqrt{u^2(V_{op}) + u^2(V_{ip})}, \quad (36)$$

где $u(V_{oj})$ и $u(V_{op})$ - стандартная неопределенность, возникающая из-за отклонения объема мерной колбы от номинальной вместимости при ее изготовлении;

$u(V_{ij})$ и $u(V_{ip})$ – стандартная неопределенность из-за отличия температуры мерной посуды от температуры, при которой нормируется погрешность объема мерной посуды (20°C).

Оценивается стандартная неопределенность объемов мерной посуды, исходя из предположения, что температура в лаборатории колебалась в пределах $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, а коэффициент расширения воды дистиллированной – 0,000207.

$$u(V_o) = \frac{\Delta_v}{\sqrt{6}}, \quad (37)$$

$$u(V_t) = \frac{0,000207 \times 2 \times V}{\sqrt{3}}, \quad (38)$$

Таблица 2. Стандартные неопределенности мерной посуды

Наименование мерной посуды	Номинальная вместимость, см ³	Допустимая погрешность, см ³	Стандартная неопределенность, $u(V_o)$, см ³	Стандартная неопределенность, $u(V_t)$, см ³	Суммарная стандартная неопределенность, см ³
Колба мерная	25	±0,08	0,033	0,0060	0,0332
	50	±0,12	0,049	0,0120	0,0504
	100	±0,20	0,082	0,024	0,085
Пипетки	5	±0,05	0,02	0,0012	0,020
	10	±0,10	0,041	0,0024	0,0409
	25	0,20	0,082	0,0060	0,0819

Для построения градуировочных графиков используются чистые вещества с содержанием основного действующего вещества не менее $98,0 \pm 2,0$ %. Стандартная неопределенность равна:

$$u(P) = \frac{2,0}{\sqrt{3}} = 1,156, \quad (39)$$

Взвешивание навески стандарта 1000,0 мг. Погрешность взвешивания на весах составляет $\pm 0,3$ мг. Предполагаем распределение вероятностей прямоугольным для пересчета в стандартную неопределенность:

$$u(m) = \frac{0,3}{\sqrt{3}} \sqrt{2} = 0,24 \quad (40)$$

Значения стандартной неопределенности концентраций градуировочных растворов находили по формуле (41).

Таблица 3. Значения стандартной неопределенности концентраций градуировочных растворов.

Номер градуировочного раствора	$X_{i,3}$ мг/см ³	$u(m)/m$	$u(P)/P$	$u(V_1)/V_1$	$u(V_2)/V_2$	$u(V_3)/V_3$	$u(x_i),$ мг/см ³	$u(x)$
1	1,000	0,0002	0,011783	0,0009	0,0041	0,0009	0,012533	0,018763
2	2,000				0,0041	0,0009	0,025065	
3	3,000				0,0041	0,0009	0,037598	
4	4,000				0,0051	0,0010	0,051656	
5	5,000				0,0041	0,0010	0,062722	

$$u(x) = \sqrt{\sum \left[\frac{u(x_i)}{n} \right]^2} = 0,018763, \quad (41)$$

$$\frac{u(x)}{x_{1,0}} = \frac{0,018763}{1,0} \times 100 = 1,87 \% \quad (42)$$

$u(x_{2,0})_{\text{отн}} \% =$ и.т.д.

Литература

1. Guide to the Expression of Uncertainty in measurement: First edition. ISO/-Geneva, 1993.
2. Руководство по выражению неопределенности измерения /пер. с англ. под науч. Ред. Проф. В.А. Слаева –ГП ВНИИМ им. Д.И. Менделеева. – Санкт-Петербург, 1999
3. Оценка неопределенности в измерениях : прак. Пособие / Н.Ю. Ефремова. – Минск.: БелГИМ, 2003.-50с.
4. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: руководство ЕВРАХИМ/СИТАК/2-е изд.-Пер. с англ. под ред. Л.А. Конопелько.-Санкт-Петербург, 2002.-141с.
5. Ефремова Н.Ю. Примеры оценивания неопределенностей из различных областей измерений и испытаний: прак. Пособие /Н.Ю. Ефремова, С.А. Качур.- Минск, 2006.-60с.
6. СТБ ГОСТ Р 50779.10-2001. Статистические методы. Вероятность и основы статистики. Термины и определения. - Мн.: Госстандарт, 2001.
7. СТБ П 8021-2003 Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь. Метрология. Основные термины и определения. - Мн. Госстандарт. 2003.
8. СТБ ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения. – Мн.: Госстандарт, 2002.
9. СТБ ИСО Руководство 33-2006. Применение сертифицированных стандартных образцов. – Мн. Госстандарт, 2007.
10. СТБ ISO 2602-2008. Статистическая интерпретация результатов испытаний. Оценивание математического ожидания. Доверительный интервал.- Мн.: Госстандарт, 2008.

11. СТБ ИСО/МЭК 17025-2007. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. – Мн.: Госстандарт, 2007.
12. Сборник докладов Международной научно-практической конференции «Метрология 2009». / Под ред. В.Н. Корешкова и др. – Минск: БелГИМ, 2009.- 342с.
13. Башун Т.В. «Оценивание неопределенности эмпирического метода определения содержания витаминов в продуктах питания»: учеб.-метод. пособие /Т.В. Башун, С.Ф. Фурс, Л.Л.Белышева. - Минск: БелМАПО,2009.-36с.
14. Международная научно-техническая конференция «Метрология 2014»: Тез. докладов. /под общ. Ред. В.В. Назаренко и др. - Минск: БелГИМ, 2014.-267с.

Оглавление

	Стр.
Введение	3
Виды ошибок в аналитической химии	4
Графическое изображение результатов измерений	9
Практическое применение классических подходов расчета графиков регрессии в современных условиях	15
Литература	23
Оглавление	25

Учебное издание

Башун Татьяна Васильевна
Бельшева Людмила Леонидовна
Фурс Сергей Федорович

**ПОСТРОЕНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ И РАСЧЕТ ЕЕ
НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ САНИТАРНО-
ГИГИЕНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Учебно-методическое пособие

Ответственная за выпуск Башун Т.В.

Подписано в печать 25. 11. 2015. Формат 60x84/16. Бумага «Discovery».

Печать ризография. Гарнитура «Times New Roman».

Печ. л. 1,63. Уч.- изд. л. 1,19. Тираж 100 экз. Заказ 318.

Издатель и полиграфическое исполнение –

Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/136 от 08.01.2014.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки,3.