

Analiza varijansi (ANOVA)

- Upoređivanje srednjih vrednosti više setova rezultata; npr. upoređivanje srednjih vrednosti koncentracija proteina u rastvorima čuvanim pod različitim uslovima, upoređivanje srednjih vrednosti rezultata dobijenih za koncentraciju analita primenom nekoliko različitih metoda; upoređivanje srednjih vrednosti rezultata titracije dobijenih od strane nekoliko eksperimenatora na istoj aparaturi.
- Može doći do odstupanja unutar uzorka i do odstupanja između uzoraka.
- **Nulta hipoteza:**
Svi uzorci potiču iz iste populacije sa srednjom vrednošću μ i varijansom σ_0^2 .

 Ako je nulta hipoteza tačna, dva određivanja σ_0^2 ne treba da se razlikuju značajno.
 Ako je nulta hipoteza netačna, odstupanje između uzoraka će biti značajno veće od odstupanja unutar uzorka.
- Vrš se upoređivanje varijansi unutar i između uzoraka jednosmernim F-testom.
- Utvrđivanje setova rezultata koji su razlog odstupanja:
 - a) Srednje vrednosti se poređaju u rastući niz vrednosti.
 - b) Vrš se određivanje najmanje značajne razlike (*least significant difference*)

$$s\sqrt{(2/n)} \times t_{h(n-1)}$$
 s - odstupanje unutar uzorka, $h(n-1)$ – broj stepeni slobode pomenutog određivanja.
 - c) Upoređivanje razlika srednjih vrednosti sa najmanjom značajnom razlikom.

Šta ćete raditi danas?

- Analiza varijansi – upoređivanje srednjih vrednosti više setova rezultata.
- Neparametrijski testovi.
- Regresija i korelacija.

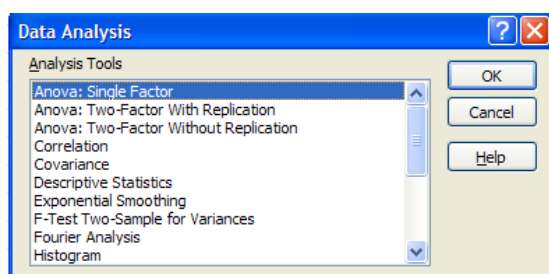
Primer 1. ANOVA

Određivana je stabilnost fluoresceina upoređivanjem uzoraka u kojima je fluorescein čuvan pod različitim uslovima. U tabeli su dati rezultati intenziteta fluorescentnog signala u rastvorima u kojima je koncentracija fluoresceina jednaka.

Uslovi	Intenzitet signala
A - sveže pripremljen rastvor	102, 100, 101
B - rastvor čuvan u mraku 1h	101, 101, 104
C - rastvor čuvan u polumraku 1h	97, 95, 99
D - rastvor čuvan na svetlosti 1h	90, 92, 94

Da li uzorci potiču iz iste populacije?

U okviru Data Analysis ToolPack-a postoji alatka **Anova: Single Factor**. Odaberite opciju sa padajućeg menija Tools/Data Analysis; starujte komandu Anova: Single Factor.
 U polje **Input Range** unesite opseg ćelija između kojih su smešteni vaši podaci.
 U polje **Output Range** unesite ćeliju ispod koje i desno do koje nema nikakvih podataka na radnom listu, u suprotnom excel će vam saopštiti da će rezultate prepisati preko već postojećih podataka.



Ukoliko ste sve ispravno uradili trebalo bi da konačan rezultat izgleda ovako:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1														
2		102	101	97	90		Anova: Single Factor							
3		100	101	95	92									
4		101	104	99	94		SUMMARY							
5							<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>			
6							Column 1	3	303	101	1			
7							Column 2	3	306	102	3			
8							Column 3	3	291	97	4			
9							Column 4	3	276	92	4			
10														
11														
12							ANOVA							
13							<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>	
14							Between Groups	186	3	62	20.66667	0.0004	4.066181	
15							Within Groups	24	8	3				
16														
17							Total	210	11					
18														
19														

Izračunata F-vrednost upoređuje se sa kritičnom vrednošću; ukoliko je $F_{izr} > F_{krt}$ nulta hipoteza se odbacuje, tj. svi uzorci ne potiču iz iste populacije; ukoliko je $F_{izr} < F_{krt}$ nulta hipoteza se zadržava, tj. uzorci potiču iz iste populacije.

Pošto je izračunata vrednost parametra F veća od kritične, nulta hipoteza se odbacuje, tj. srednje vrednosti uzoraka se značajno razlikuju.

Utvrđivanje seta rezultata koji uslovljava odstupanja vrši se tako što se srednje vrednosti poređaju u rastući niz i upoređuju razlike susednih vrednosti sa najmanjom značajnom razlikom. Srednje vrednosti uzoraka, poređane u rastući niz, su sledeće:

$$\bar{x}_D = 92 \quad \bar{x}_C = 97 \quad \bar{x}_A = 101 \quad \bar{x}_B = 102$$

Najmanja značajna razlika iznosi:

$$\sqrt{3} \cdot \sqrt{2/3} \cdot 2,306 = 3,26$$

Upoređivanjem ove vrednosti sa razlikama između srednjih vrednosti uočava se da uslovi D i C, kao i C i A daju rezultate koji se značajno razlikuju jedni od drugih i od rezultata dobijenih u uslovima A i B. Sa druge strane, rezultati dobijeni u uslovima A i B se ne razlikuju značajno jedni od drugih. Sve ovo nas navodi na zaključak da izlaganje uzorka svetlosti utiče na fluorescenciju.

Zadaci

1. Četiri analitičara vršili su određivanje sadržaja Hg (ppb) u istom uzorku. Dobijeni su sledeći rezultati:

Analitičar 1	Analitičar 2	Analitičar 3	Analitičar 4
10,38	10,14	10,20	10,19
10,26	10,25	10,11	10,15
10,29	10,04	10,02	10,16
10,42	10,28	10,15	10,28
10,31	10,16	10,50	10,10
10,19	10,09	10,12	10,32

- Odrediti srednju vrednost, standardnu devijaciju i 95%-interval pouzdanosti svakog seta podataka.
 - Utvrđiti da li postoji statistički značajna razlika ($P = 0,05$) između srednjih vrednosti prvog i trećeg seta rezultata.
 - Uporediti srednje vrednosti sva četiri seta rezultata ($P = 0,05$).
 - Odrediti zajedničku srednju vrednost i ukupnu standardnu devijaciju rezultata.
 - Uporediti zajedničku srednju vrednost sa pravom vrednošću sadržaja Hg od 10,18 ppb. Odrediti apsolutnu i relativnu grešku određivanja.
2. Podaci prikazani u tabeli predstavljaju rezultate određivanja koncentracije paracetamola (% m/m) u tabletama, dvema različitim metodama. Deset tableta iz deset različitih šarži analizirano je u cilju utvrđivanja postojanja razlike u dvema metodama.

Šarža	Metoda 1	Metoda 2
1	84,63	83,15
2	84,38	83,72
3	84,08	83,84
4	84,41	84,20
5	83,82	83,92
6	89,56	84,16
7	83,92	86,28
8	83,69	83,60
9	84,06	84,13
10	84,03	84,24

Utvrditi da li postoji statistički značajna razlika ($P = 0,05$) u dobijenim rezultatima.

3. Koncentracija analita A određivana je u nekom uzorku primenom tri metode. Dobijeni su sledeći rezultati, izraženi u ppm:

Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
22,6	13,6	16,0
23,0	14,2	15,9
21,5	13,9	16,3
21,9	13,9	16,9
21,3	13,5	16,7
22,1	13,5	17,4
23,1	13,9	17,5
21,7	13,5	16,8
22,2	12,9	17,2
21,7	13,8	16,7

- za svaki set rezultata odrediti srednju vrednost, medijanu, opseg (interval), standardnu devijaciju, varijansu, koeficijent varijacije, 95% interval pouzdanosti;
- proveriti da li se rezultati dobijeni primenom metoda 2 i 3 statistički značajno razlikuju na nivou pouzdanosti $P = 0,05$;
- proveriti da li postoji statistički značajna razlika (za $P = 0,05$) između rezultata dobijenih primenom ove tri metode.

4. Pri određivanju sadržaja antimona u nekom uzorku dobijeni su sledeći rezultati:

49.0	50.8	51.3
52.0	50.6	49.3
51.0	51.0	49.3
51.2	54.2	50.7
52.0	49.4	48.3
55.8	52.8	52.3
50.6	53.4	49.7
49.6	54.2	51.5

- Za svaki set rezultata odrediti srednju vrednost, medijanu, opseg (interval), standardnu devijaciju, 95% interval pouzdanosti;
- Utvrditi da li postoji statistički značajna razlika na nivou pouzdanosti $P = 0,05$ između srednjih vrednosti prvog i trećeg seta rezultata;
- Uporediti srednje vrednosti sva tri seta rezultata na nivou pouzdanosti $P = 0,05$.

5. Tri različite analitičke metode korišćene su za određivanje Ca: kolorimetrija, kompleksometrijska titracija i atomsko-apsorpciona spektrometrija. Dobijeni su sledeći rezultati (ppm Ca):

n	Kolorimetrija	Kompleksometrija	AAS
1	3,92	2,99	4,40
2	3,23	2,89	4,92
3	4,18	2,17	3,51
4	3,53	3,40	3,97
5	3,35	3,92	4,59

- Za svaki set rezultata odrediti srednju vrednost, medijanu, interval, standardnu devijaciju, relativnu standardnu devijaciju, varijansu, interval pouzdanosti na nivou pouzdanosti od 95%;
- Proveriti da li se srednje vrednosti dobijene kolorimetrijski i AAS.metodom statistički značajno razlikuju na nivou pouzdanosti $P = 0,05$;
- Odrediti da li se srednje vrednosti sva tri seta merenja statistički značajno razlikuju na istom nivou pouzdanosti.

Neparametrijski testovi

Test predznaka

Koristi se kada god je potrebno izračunati verovatnoću događaja da je od n znakova r znakova negativno, a ostali pozitivni.

$$P(r) = \binom{n}{r} p^r q^{(n-r)}$$

$$P(r) = \frac{n!}{(n-r)!r!} p^r q^{(n-r)}$$

p – verovatnoća dobijanja znaka minus u određenom rezultatu, q - verovatnoća dobijanja pozitivnog znaka u određenom rezultatu.

Na ovakav događaj mogu se svesti različite situacije:

A: poređenje medijane i seta rezultata

Primer 1

Farmaceutska kompanija tvrdi da njihov proizvod sadrži 8% određene aktivne materije. U praksi je pronađeno da različite tablete sadrže :

% 7.3 7.1 7.9 9.1 8.0 7.1 6.8 7.3

Da li su ovi rezultati konzistentni sa tvrdnjom proizvođača?

Rešenje:

Vrednost jednaka postuliranoj vrednosti se odbacuje. Od preostalih vrednosti se oduzima postulirana i pripisuje im se pozitivan ili negativan znak. Izračunava se verovatnoća da šest znakova

bude minus: $P(6) = \binom{7}{6} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{7}{128}$, verovatnoća da sedam znakova bude minus: $P(7) = \frac{1}{128} \Rightarrow$

verovatnoća dobijanja šest ili više negativnih znakova iznosi $\frac{8}{128}$. Pošto se u zadatku postavlja

pitanje da li se podaci značajno razlikuju od postulirane, izvodimo dvosmerni test, tj. moramo izračunati verovatnoću dobijanja šest ili više identičnih znakova kada se sedam znakova uzme u

obzir $\Rightarrow P = \frac{16}{128} = 0,125$. Pošto je ova vrednost veća od 0,05, nulta hipoteza se zadržava, tj. podaci

se ne razlikuju značajno od postulirane.

B: upareni t – test

Primer 2

Koncentracije (g/100ml) imunoglobulina G u krvnom serumu nekoliko donora su mereni pomoći dve metode, radialnom imunodifuzijom (RID) i elektro-imunodifuzijom (EID). Dobijeni su sledeći rezultati:

Donor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
RID	1.3	1.5	0.7	0.9	1.0	1.1	0.8	1.8	0.4	1.3
EID	1.1	1.6	0.5	0.8	0.8	1.0	0.7	1.4	0.4	0.9

Da li postoji značajna razlika između ova dva seta rezultata (dve metode)?

Rešenje:

Kada se od rezultata RID metode oduzmu rezultati dobijeni EID metodom dobije se sledeći sled znakova: + - + + + + + 0 +

Stoga je verovatnoća da osam od devet znakova bude pozitivno $P(8)=9 \cdot 0,5^{10}$. Verovatnoća da devet znakova bude pozitivno $P(9)=0,5^9 \Rightarrow$ verovatnoća dobijanja osam ili više pozitivnih znakova iznosi $P(8)+P(9)=0,0107$. Pošto se izvodi dvosmerno testiranje to je konačna vrednost verovatnoće udvostručena, tj. 0,0214. Pošto je ova vrednost manja od 0,05 nulta hipoteza se odbacuje, tj. postoji statistički značajna razlika između ova dva seta rezultata.

C: Ukazivanje na mogući trend u rezultatima**Primer 3**

Nivo hormona kod jednog određenog pacijenta meren je u isto vreme tokom 10 dana. Dobijeni su sledeći rezultati:

Dani	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nivo hormona ng/ml	5.8	7.3	4.9	6.1	5.5	5.5	6.0	4.9	6.0	5.0

Da li u dobijenim rezultatima postoji trend u koncentraciji hormona?

Rešenje:

Podaci se podele u dva jednaka seta, zadržavajući redosled. Za neparan broj merenja centralna vrednost se odbacuje. Traži se razlika između svakog para vrednosti: +, +, 0, +, +. Verovatnoća dobijanja četiri identična znaka iznosi $2 \cdot \frac{1}{16} = 0,125$. Pošto je ova vrednost veća od 0,05, nulta hipoteza, po kojoj ne postoji trend u podacima, se zadržava.

Wald –Wolfowitz test homogenog niza (runs-ova)

Koristi se kada je potrebno utvrditi da li je određeni sled pozitivnih i negativnih vrednosti slučajan ili postoji nekakav trend. Test proverava da li je broj sledova dovoljno mali da bi se nulta hipoteza o slučajnoj raspodeli znakova odbacila. Broj sledova iz eksperimentalnih podataka se upoređuje sa vrednostima iz Tablice u kojoj se nalaze vrednosti za N - broj pozitivnih znakova i M - broj negativnih znakova. Ukoliko je eksperimentalno određen broj sledova manji od tabličnih vrednosti, nulta hipoteza se odbacuje.

Primer 4

Linearno regresiona analiza je korišćena za izračunavanje jednačine prave koja bi opisala odnos između 12 eksperimentalnih podataka. Znakovi rezultujućih y-zaostalih vrednosti u redu porasta x vrednosti su: + + + + - - - - + +. Da li je dati sled slučajan ili postoji trend (da li je bolje fitovati krivu liniju u eksp. podatke)?

Rešenje:

$M = N = 6$, i broj sledova iznosi tri. Iz Tablice se vidi da za dato M i N broj sledova mora biti veći od 4 da bi se nulta hipoteza zadržala. U ovom slučaju se nulta hipoteza odbacuje, tj. sled pozitivnih i negativnih znakova nije slučajan i podaci se ne mogu fitovati u pravu liniju.

Wilcoxon-ov test ranga i predznaka

Predstavlja proširenje testa predznaka, koriste se pored predznaka i vrednosti rangova.

A: poređenje medijane i seta rezultata**Primer 5**

Nivo olova u krvi (pg/ml) kod sedoro dece iznosi:

104 79 98 150 87 136 101

Da li ovi podaci pripadaju populaciji sa srednjom vrednošću/medijanom od 95 pg/ml?

Rešenje:

Referentna vrednost se oduzima od dobijenih vrednosti, razlike poređaju u rastući niz zanemarujući predznak. Brojevi se potom rangiraju zadržavajući predznak. Određuje se suma pozitivnih i negativnih rangova, pri čemu se niža vrednost uzima za testiranje. Ukoliko je ova vrednost manja ili jednaka od tablične nulta hipoteza se odbacuje.

9	-16	3	55	-8	41	6
3	6	-8	9	-16	41	55
1	2	-3	4	-5	6	7

suma pozitivnih rangova - 20

suma negativnih rangova - 8

tablična vrednost za $n=7$ iznosi 2, pošto je $8 > 2$, nulta hipoteza se zadržava, tj. podaci potiču iz populacije sa medijanom 95 pg/ml.

B: upareni t – test

Primer 6

Procenat cinka u različitim uzorcima određen je pomoću dve metode – kompleksometrijski i atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom

Uzorak	1	2	3	4	5	6	7	8
EDTA	7.2	6.1	5.2	5.9	9.0	8.5	6.6	4.4
Atomska apsorpcija	7.6	6.8	4.6	5.7	9.7	8.7	7.0	4.7

Da li postoji sistematska razlika između ova dva seta rezultata?

Rešenje:

Izračunava se razlika podataka dobijenih za dve metode, rezultati poređaju u rastući niz zanemarujući predznak i rangiraju.

-0,4	-0,7	0,6	0,2	-0,7	-0,2	-0,4	-0,3
-0,2	0,2	-0,3	-0,4	-0,4	0,6	-0,7	-0,7
-1,5	1,5	-3	-4,5	-4,5	6	-7,5	-7,5

suma pozitivnih rangova - 7,5

suma negativnih rangova - 28,5

tablična vrednost za $n=8$ iznosi 3, pošto je $7,5 > 3$, nulta hipoteza se zadržava, tj. ne postoji statistički značajna razlika između dve metode.

Mann – Whitney U-test

Poređenje dva seta rezultata koji se ne mogu svesti na jedan zajednički (t-test)

Primer 7

Analiziran je sadržaj srebra u uzorku fotografskog otpada pre i posle tretiranja istog. Dobijeni su sledeći rezultati:

Netretirani otpad	9.8	10.2	10.7	9.5	10.5
Tretirani otpad	7.7	9.7	8.0	9.9	9.0

Da li metod za hemijsko tretiranje otpada smanjuje sadržaj srebra?

Rešenje:

Za svaku vrednost iz seta podataka sa višim vrednostima određuje se broj podataka sa višim vrednostima iz drugog seta podataka. ukupan broj viših vrednosti se upoređuje sa tabličnim podacima. Ukoliko je dobijena vrednost manja ili jednaka tabličnoj nulta hipoteza se odbacuje.

Netretirani otpad	Više vrednosti u tretiranom otpadu	Broj viših vrednosti
9,8	9,9	1
10,2	-	0
10,7	-	0
9,5	9,7; 9,9	2
10,5	-	0

3 < 4 - nulta hipoteza se odbacuje, tj. tretiranje otpada smanjuje sadržaj srebra.

Nepotpuna Thail-ova metoda

Linearno regresiona analiza neparametrijskim testom.

Primer 8

U slučaju kalibracije plamenog fotometra očitana je sledeća fotostruja za date koncentracije Ca^{2+} jona:

Koncentracija $\mu\text{g/ml}$	0	10	20	30	40	50	60	70
Apsorbanca	0.04	0.23	0.39	0.59	0.84	0.86	1.24	1.42

Primenom Theil-ove „nepotpune” metode odrediti nagib i odsečak regresione prave.

Rešenje:

Najpre poređati vrednosti u rastući niz. U slučaju neparnog broja merenja centralnu vrednost odbaciti. Podeliti set podataka na polovinu i na osnovu svakog para tačaka u gornjoj (x_i, y_i) i donjoj polovini seta rezultata (x_j, y_j) gde je $x_j > x_i$, odrediti vrednost b_{ij} po formuli

$$b_{ij} = \frac{y_j - y_i}{x_j - x_i}$$

Koeficijent pravca se određuje kao medijana ovako izračunatih vrednosti

Za svaku tačku datog seta rezultata odrediti odsečak prave, a , koristeći nagib određen na prethodno opisan način.

$$a_i = y_i - \tilde{b}x_i$$

Medijana dobijenih vrednosti parametra a određuje odsečak prave.

Korelacija i regresija

$$y = a + bx$$

- Koeficijent korelacije:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad -1 \leq r \leq +1$$

- Test za proveru značajnosti korelacije:

- ✓ Dvosmerni t-test
- ✓ Nulta hipoteza – ne postoji korelacija između x i y
- ✓ Broj stepeni slobode – $(n-2)$

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

- Određivanje nagiba i odsečka prave:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

- Greške nagiba i odsečka:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad b \pm t_{(n-2)} s_b$$

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad a \pm t_{(n-2)} s_a$$

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

- Izračunavanje nepoznate koncentracije i njene greške:

x_0 - vrednost dobijena zamenom izmerene y -vrednosti u jednačinu prave

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$x_0 \pm t_{(n-2)} s_{x_0}$$

- Granica detekcije: vrednost koncentracije (x), za koju važi uslov:

$$\text{granica detekcije} = y_B + 3s_B$$

$$y_B (= a), \quad s_B (= s_{y/x})$$

Primer 1. Regresija i korelacija

Standardni rastvor fluoresceina je ispitivan fluorescentnom spektrofotometrijom i dobijeni su sledeći rezultati:

Intenzitet fluorescencije: 2,1 5,0 9,0 12,6 17,3 21,0 24,7

Koncentracija, pg/cm³: 0 2 4 6 8 10 12

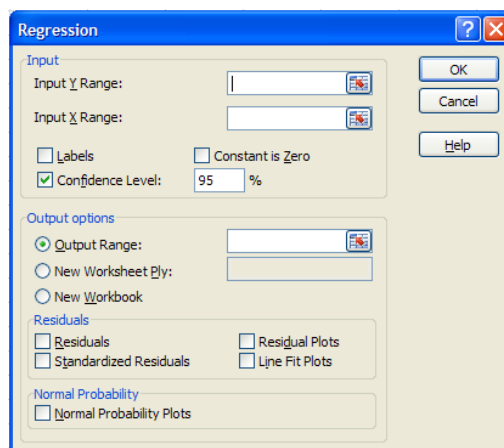
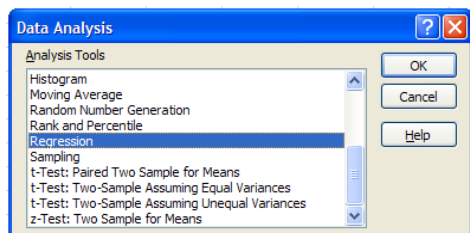
Odrediti:

- Koeficijent korelacije.
- Proveriti da li je korelacija značajna.
- Nagib i odsečak.
- Standardnu devijaciju i interval pouzdanosti nagiba i odsečka.
- Nepoznatu koncentraciju i njenu grešku za intenzitet fluorescencije od 13,5.
- Granicu detekcije određivanja fluoresceina.

U okviru Data Analysis ToolPack-a postoji alatka **Regression**. Odaberite opciju sa padajućeg menija Tools/Data Analysis; starujte komandu Regression.

U polje **Input Range** unesite opseg ćelija između kojih su smešteni vaši podaci a koji se odnose na odgovarajuću osu.

U polje **Output Range** unesite ćeliju ispod koje i desno do koje nema nikakvih podataka na radnom listu, u suprotnom excel će vam saopštiti da će rezultate prepisati preko već postojećih podataka.



Ukoliko ste sve ispravno uradili trebalo bi da konačan rezultat izgleda ovako:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1													
2		0	2.1		SUMMARY OUTPUT								
3		2	5.0										
4		4	9.0		Regression Statistics								
5		6	12.6		Multiple R	0.99887957							
6		8	17.3		R Square	0.99776039							
7		10	21.0		Adjusted R Square	0.99731246							
8		12	24.7		Standard Error	0.43284771							
9					Observations	7							
10													
11					ANOVA								
12						df	SS	MS	F	Significance F			
13		=+F5*(SQRT(5))/(SQRT(1-F5^2))			Regression	1	417.3432143	417.3432	2227.528	8.066E-08			
14		47.19669			Residual	5	0.936785714	0.187357					
15					Total	6	418.28						
16													
17						Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95.0%	Upper 95.0%
18					Intercept	1.51785714	0.294936001	5.146395	0.003626	0.75970002	2.276014	0.7597	2.276014
19					X Variable 1	1.93035714	0.040900264	47.19669	8.07E-08	1.82521967	2.035495	1.82522	2.035495
20													

- Koeficijent korelacije – **$r = 0,9989$**
- $t = 47,19669$**
 $t_k = 2,57$
 $t > t_k - H_0$ se odbacuje, tj. postoji korelacija između koncentracije i intenziteta fluorescencije.
- Nagib i odsečak – **$b = 1,93$; $a = 1,52$**
- Standardna devijacija i interval pouzdanosti nagiba i odsečka –
 $b = 1,93 \pm 0,11$; $a = 1,52 \pm 0,76$
- Nepoznata koncentracija i njena grešku za intenzitet fluorescencije od 13,5 –
 $x_0 = 6,21 \pm 0,62$
- Granic detekcije određivanja fluoresceina –
 $0,67 \text{ pg/cm}^3$.

- Upoređivanje dve analitičke metode regresionom analizom.**

Regresionu pravu možemo da upotrebimo i za upoređivanje dve metode upotrebljene za određivanje različitih koncentracija analita. Na x -osu se nanose rezultati preciznije metode. Regresionom analizom izračunava se nagib (b), odsečak (a) i korelacioni koeficijent (r) regresione prave. Ukoliko **0** ulazi u interval pouzdanosti odsečka, **1** u interval pouzdanosti nagiba i korelacioni koeficijent je blizak **1**, može se zaključiti da se metode statistički značajno ne razlikuju.

Primer 2. Regresija i korelacija

Nivo kiseline u 20 uzoraka urina određivan je novom fluorimetrijskom metodom i rezultati upoređivani rezultatima dobijenim standardnom fotometrijskom tehnikom. Dobijeni su sledeći podaci:

Uzorak	Fluorimetrija	Fotometrija
1	1,87	1,98
2	2,20	2,31
3	3,15	3,29
4	3,42	3,56
5	1,10	1,23
6	1,41	1,57
7	1,84	2,05
8	0,68	0,66
9	0,27	0,31
10	2,80	2,82
11	0,14	0,13
12	3,20	3,15
13	2,70	2,72
14	2,43	2,31
15	1,78	1,92
16	1,53	1,56
17	0,84	0,94
18	2,21	2,27
19	3,10	3,17
20	2,34	2,36

Da li se metode razlikuju po preciznosti?

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1														
2		1.87	1.98		SUMMARY OUTPUT									
3		2.20	2.31											
4		3.15	3.29		Regression Statistics									
5		3.42	3.56		Multiple R	0.996647								
6		1.10	1.23		R Square	0.993305								
7		1.41	1.57		Adjusted R Squ	0.992933								
8		1.84	2.05		Standard Error	0.082875								
9		0.68	0.66		Observations	20								
10		0.27	0.31											
11		2.80	2.82		ANOVA									
12		0.14	0.13			df	SS	MS	F	gnificance F				
13		3.20	3.15		Regression	1	18.34127	18.34127	2670.439	5.03E-21				
14		2.70	2.72		Residual	18	0.123629	0.006868						
15		2.43	2.31		Total	19	18.4649							
16		1.78	1.92											
17		1.53	1.56			Coefficient	Standard Err	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95.0%	Upper 95.0%	
18		0.84	0.94		Intercept	-0.04971	0.042914	-1.15843	0.261829	-0.13987	0.040446	-0.13987	0.040446	
19		2.21	2.27		X Variable 1	0.992415	0.019204	51.67629	5.03E-21	0.952068	1.032762	0.952068	1.032762	
20		3.10	3.17											
21		2.34	2.36											
22														
23	st.dev.	0.985818	0.990021											
24														

r = 0,9966

Odsečak iznosi -0,0497, sa donjom i gornjom granicom intervala pouzdanosti od -0,1399 i 0,0404 ⇒ interval sadrži 0.

Nagib iznosi 0,9924, donjom i gornjom granicom intervala pouzdanosti od 0,9521 i 1,0328 ⇒ interval sadrži 1.

Zaključak: metode se statistički značajno ne razlikuju.

Zadaci

6. U cilju određivanja sadržaja izo-oktana u određenoj smeši ugljovodonika vršena je kalibracija standardnim rastvorima izo-oktana i dobijene sledeće vrednosti:

Molski procenat izo-oktana	Oblast pika
0,352	1,09
0,803	1,78
1,080	2,60
1,380	3,03
1,750	4,01

- a) Utvrditi jednačinu kalibracione prave. Odrediti standardnu devijaciju i interval pouzdanosti nagiba i odsečka ($P = 0,05$).
- b) Nakon hromatografskog određivanja izo-oktana u ispitivanoj smeši ugljovodonika dobijen je pik u oblasti od 2,65. Odrediti sadržaj izo-oktana u smeši, kao i standardnu devijaciju, ako je:
1. dobijeni pik rezultat jednog merenja;
 2. dobijeni pik srednja vrednost četiri merenja.
- c) Odrediti granicu detekcije ispitivane metode.
7. U seriji standardnih rastvora puferovanih na $pH = 4,6$ određivan je Cd^{2+} i dobijeni su sledeći rezultati:

$[Cd^{2+}](nM)$	15,4	30,4	44,9	59,0	72,7	86,0
$S_{izm}(nA)$	4,8	11,4	18,2	26,6	32,3	37,7

- a) Da li je S_{izm} linearna funkcija koncentracije?
- b) Odrediti jednačinu odgovarajuće regresione prave.
- c) Izračunati interval pouzdanosti nagiba i odsečka dobijene prave.

Za rastvore puferovane na $pH = 3,7$ dobijeni su sledeći rezultati:

$[Cd^{2+}](nM)$	15,4	30,4	44,9	59,0	72,7	86,0
$S_{izm}(nA)$	15,0	42,7	58,8	77,0	101,0	118,0

- d) Da li je veća osetljivost metode na nižoj pH -vrednosti?
- e) Za nepoznati uzorak puferovan na $pH = 3,7$ dobijen je intenzitet signala od 66,3 nA. Odrediti koncentraciju Cd u uzorku ($P = 0,05$).

8. Pri kolorimetrijskom određivanju sadržaja glukoze u seriji standardnih rastvora dobijeni su sledeći rezultati:

Koncentracija, mM:	0,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Apsorbancija, A:	0,002	0,150	0,294	0,434	0,570	0,704

- a) Proveriti da li je apsorbancija linearna funkcija koncentracije.
- b) Odrediti nagib i odsečak dobijene regresione prave.
- c) Odrediti standardnu devijaciju nagiba i odsečka ove prave.
- d) Na osnovu ovih rezultata odrediti granicu detekcije glukoze
- e) Dobijena kalibraciona prava upotrebljena je za određivanje sadržaja glukoze u krvnom serumu. Za četiri paralelna određivanja glukoze u nepoznatom uzorku dobijene su sledeće vrednosti A: 0,325; 0,327; 0,339; 0,326. Koliki je sadržaj glukoze u nepoznatom uzorku?
- f) Primenom Theil-ove „nepotpune“ metode odrediti nagib i odsečak regresione prave.

9. Dve instrumentalne metode su poređene grafički i dobijena je linearna zavisnost koja je data sledećom jednačinom: $y = 3,87 \pm 15,34 + 0,86 x \pm 0,08$ ($r = 0,9945$). Rezultati koji su dobijeni ovim metodama statistički se razlikuju na nivou značajnosti od $P = 0,05$.

- a) da b) ne