

9. РОЗРАХУНОК НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКІЛЬКОХ ВИПАДКОВИХ ЗМІННИХ

Наведені в попередніх розділах розрахунки довірчих інтервалів невизначеності методик аналізу застосовні лише в тому разі, якщо вимірювана величина (концентрація, вміст тощо) є функцією тільки однієї випадкової змінної. Така ситуація зазвичай виникає під час використання прямих методів аналізу (титрування, визначення сульфатної золи, важких металів тощо). Однак більшість методик кількісного визначення у фармакопейному аналізі є непрямими, тобто використовують стандартні зразки. Отже, вимірювана величина є функцією, як мінімум, двох випадкових змінних — аналітичних сигналів (оптична густина, висота або площа піка тощо) випробовуваного і стандартного зразків. Крім того, нерідко виникає проблема прогнозування невизначеності аналітичної методики, що складається з декількох стадій (зважування, розведення, кінцева аналітична операція), кожна з яких є щодо іншої випадковою величиною.

Отже, виникає загальна проблема оцінювання невизначеності непрямо вимірюваної величини, яка залежить від декількох вимірюваних величин, зокрема: як розраховувати невизначеність усієї аналітичної методики, якщо відомі невизначеності окремих її складових (стадій)?

Нехай вимірювана у випробуванні величина y є функцією n незалежних випадкових величин x_i , тобто:

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (9.1)$$

Розкладаючи її в ряд Тейлора в точці $x_i = \mu_i$ з точністю до першої похідної, отримаємо:

$$y - y_\mu = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right) \times (x_i - \mu_i) \quad (9.2)$$

Розкладання (9.1) у ряд Тейлора з точністю до першої похідної і співвідношення (9.2), яке побудовано на ньому, є точними для лінійної функції, тобто в тому разі, коли y лінійно залежить від кожної змінної x_i . В інших випадках це лише наближення, які тим кращі, чим менше відхилення $x_i - \mu_i$.

Якщо піднести обидві частини рівняння (9.2) у квадрат, перейти до математичних сподівань (тобто до середніх значень із нескінченним

числом вимірювань для кожного x_i) і взяти до уваги, що математичні сподівання перехресних членів (які містять $(x_i - \mu_i) \times (x_j - \mu_j)$) дорівнюють нулю, то можна отримати:

$$\sigma_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times \sigma_{xi}^2 \quad (9.3)$$

Тут σ_y і σ_{xi} — генеральні стандартні відхилення.

Застосування співвідношення (9.3) потребує отримання частинних похідних (іноді громіздких), що обмежує його застосування на практиці.

У фармакопейному аналізі вимірювана величина y являє собою зазвичай добуток чи частку випадкових і постійних величин (мас наважок, розведень, оптичних густин або площ піків тощо), тобто (K — певна константа):

$$y = \frac{K \times x_1 \times x_2 \times \dots \times x_m}{x_{m+1} \times x_{m+2} \times \dots \times x_n} \quad (9.4)$$

Проводячи відповідне диференціювання за рівнянням (9.3), отримаємо:

$$\sigma_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n \sigma_{xi,r}^2 \quad (9.5)$$

Тут $\sigma_{y,r}$ і $\sigma_{xi,r}$ — генеральні відносні стандартні відхилення.

Рівняння (9.5) не потребує отримання частинних похідних і тому значно простіше у використанні, ніж співвідношення (9.3).

Співвідношення (9.3) і (9.5) застосовні для статистики Гаусса, тобто для нескінченного ($v = \infty$) або дуже великого числа ступенів свободи. Така ситуація трапляється, наприклад, під час прогнозу невизначеності в межах проведення валідації аналітичних методик. Водночас зручніше користуватися не стандартними відхиленнями, а довірчими інтервалами.

Використовуючи взаємозв'язок між довірчим інтервалом і стандартним відхиленням (див. розділ 4) можна отримати еквівалентні форми співвідношень (9.3) і (9.5), які виражені через довірчі інтервали.

За відомого значення генерального стандартного відхилення σ_x або відносного стандартного відхилення $\sigma_{x,r}$ довірчий інтервал $\Delta_x (v = \infty)$ і

відносний довірчий інтервал одиничного значення $\Delta_{x,r}(v = \infty)$ знаходяться зі співвідношень:

$$\Delta_x(v = \infty) = t(P, v = \infty) \times \sigma_x. \quad (9.6)$$

$$\Delta_{x,r}(v = \infty) = t(P, v = \infty) \times \sigma_{x,r}. \quad (9.7)$$

Тут $t(P, v = \infty) = U(P)$ — табличне значення критерію Стюдента для ймовірності P і нескінченного числа ступенів свободи (яке дорівнює табличному значенню функції нормального розподілу Гаусса).

Зважаючи на рівняння (9.6-9.7) і помножуючи обидві частини співвідношень (9.3) і (9.5) на $[t(P, v = \infty)]^2$, отримаємо:

$$\Delta_y^2(v = \infty) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times \Delta_{xi}^2(v = \infty). \quad (9.8)$$

$$\Delta_{y,r}^2(v = \infty) = \sum_{i=1}^n \Delta_{xi,r}^2(v = \infty). \quad (9.9)$$

Співвідношення (9.8) і (9.9) є повністю еквівалентними співвідношенням (9.3) і (9.5) відповідно, оскільки відрізняються лише постійним множником $[t(P, v = \infty)]^2$. Як і співвідношення (9.3) і (9.5), вони застосовні для статистики Гаусса, тобто для нескінченного числа ступенів свободи.

Хоча співвідношення (9.8) і (9.9) повністю еквівалентні співвідношенням (9.3) і (9.5), смислове навантаження в них суттєво інше — вони ґрунтуються не на стандартних відхиленнях, а на довірчих інтервалах.

На практиці ступені свободи величин x_i зазвичай невеликі і різняться між собою. Тому для розрахунку невизначеності величини y (Δ_y або $\Delta_{y,r}$) запропоновані різні підходи, серед яких можна виділити два основних: лінійна модель (яка базується на співвідношеннях (9.8) і (9.6)) і підхід Велча — Саттертвейта (Welch-Satterthwaite) (який базується на співвідношеннях (9.3) і (9.5)).

Обидва підходи використовують статистику Стюдента, але по-різному.

Лінійна модель використовує статистику Стюдента для кожного

довірчого інтервалу Δ_{xi} і $\Delta_{xi,r}$, на підставі яких за співвідношеннями (9.8) або (9.9) розраховують довірчі інтервали величини y (Δ_y або $\Delta_{y,r}$).

У підході Велча — Саттертвейта спочатку розраховують стандартні відхилення за рівняннями (9.3) або (9.5), а потім для розрахунку довірчих інтервалів величини y використовують статистику Стюдента.

9.1. Лінійна модель

У разі невеликого (і неоднакового) числа ступенів свободи ми маємо справу не з генеральними значеннями σ_x або $\sigma_{x,r}$, а з їх оцінками — вибірковими стандартними відхиленнями s_x або $s_{x,r}$.

Для тієї самої ймовірності P завжди виконується нерівність:

$$t(P, v) \geq t(P, v = \infty). \quad (9.10)$$

Тому для тієї самої ймовірності P , довірчий інтервал для скінченного числа ступенів свободи більше, ніж довірчий інтервал для нескінченного числа ступенів свободи, тобто:

$$\Delta_x = t(P, v) \times s_x \geq t(P, v = \infty) \times \sigma_x = \Delta_x(v = \infty). \quad (9.11)$$

$$\Delta_{x,r} = t(P, v) \times s_{x,r} \geq t(P, v = \infty) \times \sigma_{x,r} = \Delta_{x,r}(v = \infty). \quad (9.12)$$

Співвідношення (9.11-9.12) констатують очевидний для функції однієї випадкової змінної факт: для тієї самої ймовірності P , довірчі інтервали, розраховані за статистикою Стюдента (скінченне число ступенів свободи), ширші, ніж за статистикою Гаусса (нескінченне число ступенів свободи), оскільки враховують також і невизначеність самого стандартного відхилення.

Зважаючи на співвідношення (9.11-9.12), рівняння (9.8-9.9) можна записати як:

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \times \Delta_{xi}^2 \geq \Delta_y^2(v = \infty). \quad (9.13)$$

$$\Delta_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta_{xi,r}^2 \geq \Delta_{y,r}^2(v = \infty). \quad (9.14)$$

Отже, розраховані за рівняннями (9.13-9.14) величини Δ_y і $\Delta_{y,r}$ являють

собою (як і в разі функції однієї випадкової змінної) верхні оцінки для генеральних значень $\Delta_y(v = \infty)$ і $\Delta_{y,r}(v = \infty)$, розрахованих за співвідношеннями (9.8-9.9).

У деяких випадках вимірювана величина y являє собою суму або різницю випадкових і постійних величин, тобто (K_i — певні константи):

$$y = \sum_{i=1}^n K_i \times x_i \quad (9.15)$$

У цьому разі співвідношення (9.3) набуває вигляду:

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n K_i^2 \times \Delta_{xi}^2 \quad (9.16)$$

де використані абсолютні довірчі інтервали.

Співвідношення (9.13), (9.14) і (9.16) застосовні за будь-яких ступенів свободи (зокрема, і нескінченних) для величин x_i . Їх перевагою є простота та наочність.

Під час проведення фармакопейного аналізу в сумарній невизначеності ($\Delta_{As,r}$) аналізу зазвичай завжди можна виділити такі типи невизначеностей: невизначеність пробопідготовки ($\Delta_{SP,r}$), невизначеність кінцевої аналітичної операції ($\Delta_{FAO,r}$) і невизначеність атестації стандартного зразка ($\Delta_{RS,r}$). Величина $\Delta_{RS,r}$ зазвичай настільки мала, що нею можна знехтувати. З огляду на це, а також на те, що аналіз проводиться і для випробовуваного розчину (індекс «*smp*»), і для розчину порівняння (індекс «*st*»), вираз (9.14) можна навести як:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{[(\Delta_{SP,r}^{smp})^2 + (\Delta_{SP,r}^{st})^2] + [(\Delta_{FAO,r}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2]} \quad (9.17)$$

Водночас кожний із доданків обчислюють із його складових компонентів за формулою (9.14).

Якщо число ступенів свободи величин x_i однакове або досить велике (> 30), вираз (9.14) дає:

$$s_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n s_{xi,r}^2 \quad (9.18)$$

9.1.1. Зважене середнє

Слід зазначити, що в межах лінійної моделі (9.16) можна одержати зважене середнє декількох нерівноточних вибірок різних генеральних сукупностей, використовуючи як ваги квадрати відповідних довірчих інтервалів. Якщо мають g вибірових середніх $\bar{x}_k$ різних генеральних сукупностей, одержаних із невизначеностями $\Delta_{\bar{x},k}$, середнє цих вибірок $\bar{x}$ визначають зі співвідношення:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x},k}^2) \times \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x},k}^2)} \quad (9.19)$$

Проводячи відповідне диференціювання співвідношення (9.19) за рівнянням (9.13), знайдемо абсолютний довірчий інтервал $\Delta_{\bar{x}}$ цього зваженого середнього $\bar{x}$:

$$\Delta_{\bar{x}}^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{\bar{x},k}^2)} \quad (9.20)$$

Якщо число ступенів свободи вибірових середніх $\bar{x}_k$ однакове або досить велике (> 30), вирази (9.19-9.20) дають:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x},k}^2) \times \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x},k}^2)} \quad (9.21)$$

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/s_{\bar{x},k}^2)} \quad (9.22)$$

де:

$s_{\bar{x},k}^2$ — дисперсія одиничного результату k -тої вибірки.

Зазначимо, що окремий випадок (9.21) набагато менш застосовний, ніж загальне співвідношення (9.19).

Вибіркові середні $\bar{x}_k$ зазвичай близькі поміж собою і до зваженого середнього $\bar{\bar{x}}$, тому в співвідношеннях (9.19) і (9.20) замість абсолютних довірчих інтервалів можуть бути використані відносні довірчі інтервали, а в співвідношеннях (9.20) і (9.22) замість абсолютних дисперсій — відносні дисперсії.

Якщо всі вибіркові довірчі інтервали або стандартні відхилення однакові, тобто $\Delta_{\bar{x},k} = \Delta_0$ або $s_{\bar{x},k} = s_0$ відповідно, то співвідношення (9.20) і (9.22) дають:

$$\Delta_{\bar{x}} = \frac{\Delta_0}{\sqrt{g}},$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_0}{\sqrt{g}},$$

тобто звичайні вирази для взаємозв'язку довірчого інтервалу і стандартного відхилення середнього і одиничного результатів (див. п. 1.4).

Якщо вибірки являють собою, наприклад, результати аналізу тієї самої речовини в різних лабораторіях, іноді виникає необхідність оцінити середню невизначеність аналізу цієї речовини у всіх лабораторіях. У цьому разі не зовсім коректно в будь-який спосіб усереднювати довірчі інтервали $\Delta_{\bar{x},k}$, оскільки вони залежать від числа аналізів і теоретично можуть бути одержані як завгодно малими - за рахунок збільшення числа випробувань. Більш коректно оцінювати міжвибіркове відносне стандартне відхилення. Для цього можуть бути використані співвідношення (1.14b) і (1.15). Слід зазначити, що в цьому разі одержане

міжвибіркове відносне стандартне відхилення не є оцінкою деякого «генерального стандартного відхилення», а являє собою просто деяку середню величину.

9.2. Підхід Велча — Саттертвейта

У цьому підході дисперсію величини y (s_y^2) розраховують за співвідношенням (9.3), незважаючи на розходження в ступенях свободи (v_i) величин x_i . Для одержаної дисперсії s_y^2 розраховують деяке «ефективне» число ступенів свободи v_{eff} (яке зазвичай є дробовим), на підставі якого потім за таблицями для заданої імовірності інтерполяцією знаходять коефіцієнт Стюдента. На підставі його далі звичайним шляхом (див. розділ 4) розраховують довірчий інтервал величини y (Δ_y).

$$v_{eff} = \frac{s_y^4}{\sum_{i=1}^n \frac{\left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^4 \times s_{xi}^4}{v_i}} \quad (9.23)$$

У фармакопейному аналізі для визначуваної величини y зазвичай виконується рівняння (9.4). У цьому разі в підході Велча — Саттертвейта співвідношення (9.3) переходить у вираз (9.5), і співвідношення (9.23) набуває простішого вигляду:

$$v_{eff} = \frac{s_{y,r}^4}{\sum_{i=1}^n \frac{s_{xi,r}^4}{v_i}}, \quad (9.24)$$

де величину $s_{y,r}^4$ розраховують зі співвідношення (9.5).

Підхід Велча — Саттертвейта зазвичай дає вузьчі довірчі інтервали, ніж лінійна модель (див. п. 9.3). Однак він набагато складніший у застосуванні і не дозволяє виділити невизначеність різних етапів (з подальшими рекомендаціями щодо їх мінімізації) так просто, як лінійна модель у формі

виразу (9.14).

Крім того, на відміну від лінійної моделі, підхід Велча — Саттерс/твейта може давати некоректні результати в граничних випадках, наприклад, коли величини $s_{xi, r}$ рівняння (9.24) мають одночасно дуже малі ($\nu = 1-3$) і дуже великі ($\nu = \infty$) ступені свободи (див. п. 9.4). Зазначимо, що такі випадки досить поширені в практиці фармацевтичного аналізу: наприклад, поєднання невизначеностей маси наважки ($\nu = \infty$) і паралельних титрувань або хроматограм ($\nu = 1-3$).

Під час прогнозу невизначеності аналізу використовуються генеральні величини (із нескінченним числом ступенів свободи). У цьому разі підхід Велча — Саттертвейта збігається з лінійною моделлю.

9.3. Приклади розрахунків невизначеності функції декількох змінних

9.3.1. Розрахунок невизначеності методики аналізу готового лікарського за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)

У таблетці із середньою масою 0.50 г міститься 0.050 г речовини А. У процесі проведення кількісного визначення методом ВЕРХ наважку $m = 0.5052$ г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять розчинником до позначки. Паралельно готують розчин порівняння: 0.0508 г стандартного зразка поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм розчину розчинником до позначки. Поперемінно хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння, одержуючи по 5 хроматограм кожного розчину. У Табл. 9.1 наведені площі одержаних піків.

Таблиця 9.1

Площі піків випробовуваного розчину і розчину порівняння, які отримані під час кількісного визначення методом ВЕРХ

	Площі піків (S і S_{st}) для хроматограм №				
	1	2	3	4	5
Випробовуваний розчин	13957605	13806804	13924245	13715195	14059478
Розчин порівняння	14240777	14102192	14316388	14205217	14409585

9.3.1.1. Кінцева аналітична операція

Розраховують середні значення, вміст речовини А в одній таблетці і

відносні стандартні відхилення площ піків для випробовуваного розчину і розчину порівняння в кінцевій аналітичній операції.

а) Середні значення площ піків:

Випробовуваний розчин: $(13957605 + 13806804 + 13924245 + 13715195 + 14059478) / 5 = 13892665$.

Розчин порівняння: $(14240777 + 14102192 + 14316388 + 14205217 + 14409585) / 5 = 14254832$.

б) Вміст аналізованої речовини А, у грамах, у перерахунку на середню масу таблетки:

$$X = \frac{S \times m_{st} \times 50 \times 0.5}{S^{st} \times m \times 50} = \frac{13892665 \times 0.0508 \times 50}{14254832 \times 0.5052 \times 50} \times 0.5 = 0.0490$$

.

с) Відносні стандартні відхилення площ піків:

Випробовуваний розчин:

$$RSD = \frac{100}{13892665} \cdot \sqrt{\frac{(13957605 - 13892665)^2 + (13806804 - 13892665)^2 + (13924245 - 13892665)^2 + (13715195 - 13892665)^2 + (14059478 - 13892665)^2}{4}} = 0.97 \%$$

Аналогічно для *розчину порівняння*:

$$RSD^{st} = 0.81 \%$$

9.3.1.2. Сумарна невизначеність пробопідготовки $\Delta_{SP, r}$

Відповідно до загальної статті «Валідація аналітичних методик і випробувань», невизначеності не мають перевищувати для:

- мірної колби місткістю 50 мл — 0.17 %;
- зважування на аналітичних вагах — 0.2 мг (0.0002 г), що становить:
 - $100 \times 0.0002 / 0.5052 = 0.04 \%$ для випробовуваного зразка;
 - $100 \times 0.0002 / 0.0508 = 0.39 \%$ для стандартного зразка.

Ці невизначеності можна вважати довірчими інтервалами для ймовірності 95 %.

Сумарну невизначеність пробопідготовки обчислюють за формулою (9.14):

$$\Delta_{SP,r} = \sqrt{(0.04^2 + 0.39^2) + (0.17^2 + 0.17^2)} = 0.46 \, \%.$$

Зазначимо, що такий розрахунок є коректним для обох підходів — лінійної моделі та підходу Велча — Саттертвейта: оскільки число ступенів свободи для кожного члена тут нескінченне, використовується статистика Гаусса.

9.3.1.3. Розрахунок сумарної невизначеності методики аналізу $\Delta_{As,r}$

Цей розрахунок різниться для лінійної моделі та підходу Велча — Саттертвейта.

а) Лінійна модель

Загальний випадок

Розраховують невизначеність кінцевої аналітичної операції $\Delta_{FAO,r}$ для випробовуваного розчину та розчину порівняння. Під час розрахунку довірчих інтервалів використовують однобічний коефіцієнт Стюдента для ймовірності 95 % (= 90 % для двобічного розподілу), що для числа ступенів свободи $5 - 1 = 4$ дорівнює 2.13. Довірчі інтервали розраховують для середнього з 5 результатів, тому в знаменнику маємо $\sqrt{5}$:

$$\Delta_{FAO,r}^{smp} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%, 4) \times RSD = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 2.13 \times 0.97 = 0.92 \, \%$$

$$\Delta_{FAO,r}^{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%, 4) \times RSD_{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 2.13 \times 0.81 = 0.77 \, \%$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції:

$$\Delta_{FAO,r} = \sqrt{(\Delta_{FAO}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO}^{st})^2} = \sqrt{(0.92)^2 + (0.77)^2} = 1.20 \, \%$$

Використовуючи рівняння (9.17), розраховують сумарну невизначеність аналізу $\Delta_{As,r}$:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.20^2} = 1.29 \%$$

Використання об'єднаного стандартного відхилення

Сумарну невизначеність аналізу можна зменшити за рахунок використання об'єднаного стандартного відхилення для кінцевої аналітичної операції. Для цього слід врахувати, що RSD_{smp} і RSD_{st} зазвичай є вибірковими величинами тієї самої генеральної сукупності.

Перевіряють спочатку з використанням критерію Фішера (див. розділ 2.1) гіпотезу про рівність дисперсій:

$$\frac{RSD_{smp}^2}{RSD_{st}^2} = \frac{0.97^2}{0.81^2} = 1.434 < 6.388 = F(P_1 = 95\%; 4; 4)$$

Як видно, розраховане значення відношення дисперсій значно нижче табличного значення F -критерію на 95% рівні значущості. Тому можна взяти гіпотезу про рівність дисперсій і використати формули розділу 1.3 для об'єднання вибірок.

Розраховують об'єднане стандартне відхилення за рівнянням (1.14b):

$$RSD_p = \sqrt{[(0.97)^2 + (0.81)^2]/2} = 0.89 \%$$

Згідно з рівнянням (1.15), RSD_p має число ступенів свободи $2 \times (5 - 1) = 8$. Коефіцієнт Стюдента для цього числа ступенів свободи й односторонньої імовірності 0.95 дорівнює 1.86.

Тоді довірчі інтервали невизначеності кінцевої аналітичної операції для випробовуваного і стандартного розчинів будуть рівними:

$$\Delta_{FAO,r}^{smp} = \Delta_{FAO,r}^{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \times t(90\%; 8) \times RSD = \frac{1}{\sqrt{5}} \times 1.86 \times 0.89 = 0.74 \%$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції дорівнює:

$$\Delta_{FAO,r} = \sqrt{(\Delta_{FAO}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO}^{st})^2} = \sqrt{(0.74)^2 + (0.74)^2} = 1.05 \%$$

Використовуючи рівняння (9.17), розраховують сумарну невизначеність аналітичної методики $\Delta_{As,r}$:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.05^2} = 1.15 \%$$

Як бачимо, ця величина (1.15 %) менша за одержану для звичайного випадку (1.29 %).

б) Підхід Велча — Саттертвейта

Знаходять стандартне відхилення пробопідготовки з довірчого інтервалу $\Delta_{SP,r} = 0.46 \%$ (див. п. 9.3.1.1), використовуючи коефіцієнт Гаусса 1.65 для однобічної імовірності 0.95 (оскільки число ступенів свободи нескінченне — як для генеральної сукупності):

$$s_{sp,r} = 0.46 / 1.65 = 0.28 \%$$

Зі співвідношення (9.18) знаходять стандартне відхилення всієї аналітичної методики (величини RSD^2 і $(RSD^{st})^2$ ділять на 5 як для дисперсій середнього результату):

$$s_{As,r} = \sqrt{s_{SP,r}^2 + \frac{1}{5} [RSD^2 + (RSD^{st})^2]} =$$

$$\sqrt{0.28^2 + \frac{1}{5} \times (0.97^2 + 0.81^2)} = 0.63$$

Знаходять за рівнянням (9.24) «ефективне» число ступенів свободи v_{eff} . Водночас для RSD і RSD^{st} число ступенів свободи дорівнює $5 - 1 = 4$, а для $s_{sp,r}$ — нескінченність.

$$v_{eff} = \frac{s_{As,r}^4}{\frac{s_{SP,r}^4}{\infty} + \frac{RSD^4}{5^2 \times 4} + \frac{(RSD^{st})^4}{5^2 \times 4}} = \frac{0.63^4}{0 + \frac{1}{100} \times (0.97^4 + 0.81^4)} = 12.0$$

За Табл. 10.2 знаходять коефіцієнт Стюдента для числа ступенів свободи 12.0 і однобічної імовірності 0.95. Це 1.78. Тоді довірчий інтервал усієї аналітичної методики становить:

$$\Delta_{As,r} = 1.78 \times 0.63 = 1.12 \%$$

Як бачимо, довірчий інтервал, розрахований за підходом Велча —

Саттерс/твейта (1.12 %), дещо вужчий, ніж для звичайного випадку лінійної моделі (1.29 %), і практично співпадає під час використання об'єднаного стандартного відхилення (1.15 %).

9.3.2. Прогноз невизначеності спектрофотометричного аналізу готового лікарського засобу

За таких прогнозів завжди використовуються генеральні величини, тому застосовується статистика Гаусса. Зазвичай використовується коефіцієнт Гаусса 1.65 для одnobічної імовірності 0.95.

Під час проведення спектрофотометричного кількісного визначення готового лікарського засобу (ГЛС) беруть номінальні наважки близько $m = 0.50$ г (ГЛС) і близько $m_{st} = 0.050$ г (стандартний зразок). Використовують однакові розведення для випробовуваного розчину і розчину порівняння: наважка $\rightarrow$ 50 мл (мірна колба); 1 мл (піпетка) одержаного розчину $\rightarrow$ 100 мл (мірна колба). Спектрофотометрична невизначеність оптичної густини (за паспортом приладу) $s_{,r} = 0.2$ %, кюветна невизначеність (експериментально знайдена) $s_{cell,r} = 0.1$ %. Передбачається, що буде проводитися 3-кратне вимірювання оптичної густини випробовуваного розчину та розчину порівняння з вийманням кювети. Слід провести прогноз невизначеності аналізу.

1) Спочатку знаходять невизначеність пробопідготовки. Згідно із загальною статтею «Валідація аналітичних методик і випробувань» невизначеності не мають перевищувати для:

- зважування на аналітичних вагах — 0.2 мг (0.0002 г), що становить $100 \times 0.0002 / 0.5 = 0.04$ % для випробовуваного зразка і $100 \times 0.0002 / 0.050 = 0.40$ % для стандартного зразка;
- мірної колби місткістю 50 мл — 0.17 %;
- мірної колби місткістю 100 мл — 0.12 %;
- піпетки місткістю 1 мл — 0.6 %.

Зважаючи на співвідношення (9.14), повна невизначеність пробопідготовки дорівнює (з урахуванням випробовуваного розчину та розчину порівняння):

$$\begin{aligned} & (0.04^2 + 0.40^2) + (0.17^2 + 0.17^2) + \\ & + (0.12^2 + 0.12^2) + (0.6^2 + 0.6^2) \\ & \Delta_{SP,r} = \sqrt{} = 0.98 \% \end{aligned}$$

Отже, основний внесок у невизначеність пробопідготовки вносить піпетка малого об'єму (0.6%) і мала наважка 0.05 г (0.4 %).

2) Використовуючи співвідношення (9.14), знайдемо невизначеність кінцевої аналітичної операції (спектрофотометрії). Коефіцієнт 2 враховує наявність випробовуваного розчину і розчину порівняння:

$$\Delta_{FAO,r} = 1.65 \times \sqrt{\frac{2 \times (s_{A,r}^2 + s_{cell,r}^2)}{3}} = 1.65 \times \sqrt{\frac{2 \times (0.2^2 + 0.1^2)}{3}} = 0.30 \%$$

3) Обчислюють тепер за формулою (9.17) повну прогнозовану невизначеність аналізу:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.98^2 + 0.30^2} = 1.03 \%$$

Як бачимо, основний внесок у повну невизначеність аналізу робить пробопідготовка (0.98 %).

9.3.3. Розрахунок середнього значення декількох нерівноточних вибірок

У результаті міжлабораторного експерименту в десяти лабораторіях ($g = 10$) отримані такі результати кількісного аналізу деякого готового лікарського засобу (див. Табл. 9.2):

Таблиця 9.2

Результати кількісного визначення, які отримані в міжлабораторному експерименті

№ лабораторії	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\bar{x}_k$ % абс	10.8	10.6	11.2	11.1	10.9	11.1	10.5	10.8	11.0	11.2
$\Delta_{\bar{x},k}$ % абс.	0.32	0.21	0.65	0.45	0.25	0.32	0.19	0.34	0.42	0.58

Яке середнє значення вмісту діючої речовини має лікарський засіб за даними міжлабораторного експерименту?

Результати аналізу в різних лабораторіях не можна вважати вибірками з однієї генеральної сукупності, навіть якщо вони отримані з використанням одного методу, наприклад ВЕРХ. Це пов'язано з тим, що метрологічні характеристики приладів у різних лабораторіях різні. Зокрема,

хроматографи можуть мати істотно різні генеральні дисперсії збіжності хроматографічного сигналу, пов'язані як з приладовими факторами, так і з відмінностями колонок і умов аналізу. Тому рівняння (1.16) тут не застосовне. Не застосовне і рівняння (9.21) — число ступенів свободи здебільшого невелике і не однакове. Тому застосовують співвідношення (9.19):

$$\bar{x} = \frac{\frac{10.8}{0.32^2} + \frac{10.6}{0.21^2} + \frac{11.2}{0.65^2} + \frac{11.1}{0.45^2} + \frac{10.9}{0.25^2} + \frac{11.1}{0.32^2} + \frac{10.5}{0.19^2} + \frac{10.8}{0.34^2} + \frac{11.0}{0.42^2} + \frac{11.2}{0.58^2}}{\frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.21^2} + \frac{1}{0.65^2} + \frac{1}{0.45^2} + \frac{1}{0.25^2} + \frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.19^2} + \frac{1}{0.34^2} + \frac{1}{0.42^2} + \frac{1}{0.58^2}} =$$

$$i \frac{1189.89}{110.51} = 10.77 \, \%.$$

Для порівняння: звичайне (незважене) середнє значення, обчислене за формулою (1.2), становитиме 11.92 %, тобто на $11.92 - 10.77 = 1.15 \, \%$ вище.

Відповідно до співвідношення (9.20), абсолютний довірчий інтервал цього зваженого середнього дорівнює:

$$\Delta_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{110.51}} = 0.095 \, \%$$

Як видно, ця величина суттєво менше будь-якого окремого довірчого інтервалу $\Delta_{\bar{x},k}$.

9.3.4. Порівняння застосування лінійної моделі і підходу Велча — Саттертвейта в граничному випадку

Нехай маємо дві однакові складові невизначеності (відносні стандартні відхилення $s_{x1,r}$ і $s_{x2,r}$ у відсотках) з діаметрально різними числами ступенів свободи:

$$(1/1) \quad s_{x1,r} = 1.0, \nu_1 = \infty; t(0.95, \infty) = 1.64;$$

$$(1/2) \quad s_{x2,r} = 1.0, \nu_2 = 1; t(0.95, 1) = 6.31.$$

Перша складова ($\nu_1 = \infty$) може бути пов'язана, наприклад, з оцінюванням невизначеності зважування, а друга ($\nu_2 = 1$) — зі збіжністю повторних хроматограм.

Відповідні оцінки об'єднаної невизначеності для цього випадку за допомогою лінійної моделі (9.14) і підходу Велча — Саттертвейта (9.24)

наведені в Табл. 9.3. Також наведені оцінки невизначеності для кожної окремої складової за допомогою звичайної статистики функції однієї випадкової змінної (див. розділ 4).

Припустімо, що така об'єднана невизначеність нас не влаштовує, і ми вирішили зменшити її за рахунок зменшення невизначеності зважування (наприклад, шляхом збільшення наважки) у 2 і 10 раз відповідно, тобто:

$$(0.5/1) \quad s_{x1,r} = 0.5, v_1 = \infty; t(0.95, \infty) = 1.64;$$

$$(0.5/2) \quad s_{x2,r} = 1.0, v_2 = 1; t(0.95, 1) = 6.31.$$

$$(0.1/1) \quad s_{x1,r} = 0.1, v_1 = \infty; t(0.95, \infty) = 1.64;$$

$$(0.1/2) \quad s_{x2,r} = 1.0, v_2 = 1; t(0.95, 1) = 6.31.$$

Відповідні оцінки об'єднаної невизначеності ($\Delta_{y,r}$, %) для цих випадків за допомогою лінійної моделі і підходу Велча — Саттертвейта також наведені в Табл. 9.3.

Таблиця 9.3

Порівняння застосування лінійної моделі і підходу Велча — Саттертвейта

$s_{x1,r}$	v_1	$\Delta_{x1,r}$	$s_{x2,r}$	v_2	$\Delta_{x2,r}$	Лінійна модель	Підхід Велча — Саттертвейта			
						$\Delta_{y,r}$	$s_{y,r}$	v_{eff}	$t(0.95, v_{eff})$	$\Delta_{y,r}$
1.0	∞	1.64	1.0	1.0	6.31	6.52	1.41	4.00	2.13	3.01
0.5	∞	0.82	1.0	1.0	6.31	6.37	1.12	1.56	3.56	3.98
0.1	∞	0.16	1.0	1.0	6.31	6.32	1.005	1.02	6.11	6.14

Зменшення однієї зі складових ($s_{x1,r}$) об'єднаної невизначеності має зменшувати об'єднану невизначеність $\Delta_{y,r}$. Це і спостерігається у разі лінійної моделі (з 6.52 до 6.32). Водночас у разі підходу Велча — Саттертвейта зменшення $s_{x1,r}$ призводить до зростання (удвічі) об'єднаної невизначеності $\Delta_{y,r}$ (з 3.01 до 6.14)). До того ж об'єднана невизначеність $\Delta_{y,r} = 3.01$ менше (удвічі) невизначеності однієї зі своїх складових ($\Delta_{x2,r} = 6.31$), що абсурдно. Тому в цьому разі модель Велча — Саттертвейта несумісна із загальноприйнятою статистикою функції однієї випадкової

змінної.

Як видно, застосування підходу Велча — Саттертвейта може призводити до отримання некоректних результатів. Тому використання його для отримання валідаційних критеріїв загалом може призвести до некоректних висновків.

Лінійна модель як вираз-(9.14) позбавлена всіх цих недоліків. Як вже зазначалося вище, лінійна модель дає дещо ширші довірчі інтервали, ніж підхід Велча — Саттерс/твейта, тому розроблені для лінійної моделі валідаційні критерії застосовні і для моделі Велча — Саттертвейта.