

制作标准曲线中存在的问题及修正方法

周 聪 勃

(西北农业大学基础课部, 陕西杨陵 · 712100)

摘 要 在进行样品分析时, 常用标准曲线法求算样品中待测组分的含量。在制作标准曲线时, 由于误差的影响, 经常使回归直线不能通过原点, 从而影响计算结果的正确性。本文对回归方程是否受到系统误差的干扰进行了检验, 如果不存在系统误差, 则按通过原点的回归方程进行修正。

关键词 标准曲线, 修正, 回归方程**中图分类号** Q655, Q94.336

实验室进行样品分析测定时, 常采用标准曲线法。标准曲线按设计应该通过原点, 但在实际工作中, 由于系统误差和随机误差的存在并非如此, 这会使计算结果产生较大的误差。我们在进行制订“水果、蔬菜中 NO_2^- 、 NO_3^- 含量测定”标准方法的实验时, 就发生这种情况。由于许多样品中的 NO_2^- 含量极低, 有时会使计算结果为负值。本文针对这一情况, 对回归方程进行了检验和修正, 从而使工作曲线的性能得到了保证。

1 标准曲线的一般作法

按照选定的实验方法, 先用基准试剂或标准样配制成标准系列, 测得绘制标准曲线的实验数据。如用分光光度法测定 NO_2^- 含量时得到如下一组数据:

C ($\text{NO}_2^- \mu\text{g}/50 \text{ mL}$)	0.00	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00	15.00	20.00	25.00	30.00
A (吸光度)	0.000	0.025	0.048	0.096	0.143	0.189	0.233	0.345	0.560	0.661	

对上述数据进行一元回归分析(模型为 $A = \beta_0 + \beta_1 C + \epsilon$, $\beta_0 = a$, $\beta_1 = b$)^[1], 标准曲线为 $\hat{A} = a + bC$, 其中

$$b = \frac{l_{CA}}{l_{CC}} = \frac{\sum(C_i - \bar{C})(A_i - \bar{A})}{\sum(C_i - \bar{C})^2}$$

$$a = \bar{A} - b\bar{C}$$

$$r = \frac{\sum(C_i - \bar{C})(A_i - \bar{A})}{\sqrt{\sum(C_i - \bar{C})^2 \sum(A_i - \bar{A})^2}} \quad (\text{相关系数})$$

对上述数据的回归计算^[2]可得如下结果:

$$\begin{aligned} \bar{C} &= 11 & \bar{A} &= 0.2499 & n &= 11 \\ \sum C_i &= 121 & \sum A_i &= 2.749 & \sum C_i A_i &= 53.19 \\ \sum C_i^2 &= 2371 & \sum A_i^2 &= 1.194 & & \end{aligned}$$

$$L_{cc} = 1040 \quad L_{AA} = 0.5067509 \quad L_{cA} = 22.95 \\ b = 0.022067 \quad a = 7.15803 \times 10^{-3} \quad r = 0.9997414$$

经检验相关系数 r 是极显著的,即回归是极显著的。

一般分析,要求其显著性水平为 5%。如果标准曲线的相关系数能达到三个 9 (即 $r = 0.999 \times$) 就认为很好。作者认为,回归线的相关系数达到三个 9 乃至四个 9,并不能排除实验有系统误差。当然在分析化学中讨论误差时,是在排除系统误差的前提下讨论随机误差^[3],但系统误差并不能因要排除就一定会排除。因此必须经过一定的检验,确证没有系统误差时,才能修正回归方程。

2 检验实验有无系统误差

由于标准曲线的设计是通过原点的,故对回归截距与零有无显著差异的检验就是有无系统误差的检验。即检验假设 $H_0: \beta_0 = 0$, 在 H_0 成立时; 由于 $\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$, 故有

$$\alpha \sim N\left(0, \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{c}^2}{L_{cc}}\right) \sigma^2\right) \\ \hat{\sigma}^2 = L_{AA}(1 - r^2)/(n - 2) \\ t_a = \frac{\alpha}{\sqrt{\frac{L_{AA}(1 - r^2)}{n - 2} \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{c}^2}{L_{cc}}\right)}} \sim t(n - 2)$$

故在显著水平 α 之下有: 当 $t \leq t_a$ 时, 说明基准实验无系统误差, 否则有系统误差。对于上述回归计算结果有:

$$t_a = \frac{7.15803 \times 10^{-3}}{\sqrt{\frac{0.506751(1 - 0.99974^2)}{n - 2} \left(\frac{1}{11} + \frac{121}{1040}\right)}} = 2.913$$

查表得: $t_{0.05} = 2.262 < 2.913 < t_{0.01} = 3.250$

检验说明本实验在 5% 的显著性水平下有系统误差, 而在 1% 显著性水平下无系统误差^[4]。如果要求显著水平为 5%, 则应通过一系列实验找出产生系统误差的原因并予以排除。

下面再举一组没有系统误差的实验数据:

C (NO ₂ μg/50mL)	0.00	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	10.00	15.00	20.00	25.00	30.00
A(吸光度)	0.000	0.023	0.048	0.070	0.093	0.118	0.144	0.164	0.188	0.235	0.340	0.460	0.575	0.692

$$\bar{C} = 9.714 \quad \bar{A} = 0.225 \quad n = 14$$

$$\Sigma C_i = 136 \quad \Sigma A_i = 3.15 \quad \Sigma C_i A_i = 56.592$$

$$\Sigma C_i^2 = 2454 \quad \Sigma A_i^2 = 1.305$$

$$L_{cc} = 1132.85 \quad L_{AA} = 0.5964 \quad L_{cA} = 25.99$$

$$b = 0.02294 \quad a = 2.1608 \times 10^{-3} \quad r = 0.9998877^{**}$$

而

$$t_a = \frac{2.1608 \times 10^{-3}}{\sqrt{\frac{0.5964 \times (1 - 0.9999^2)}{14 - 2} \left(\frac{1}{14} + \frac{9.714^2}{1132.85}\right)}} = 1.644$$

$$t_a = 1.644 < t_{0.05} = 2.179$$

经检验该基准实验在 5% 的显著水平下没有系统误差, 即 $H_0: \beta_0 = 0$ 被接受。此时曲线应按通过原点的回归直线来重新估计回归系数。

3 通过原点的回归直线的建立

经检验无系统误差时, 可按照通过原点的回归直线建立标准曲线, 即 $\hat{A} = BC$ 。这时 b 的最小二乘估计为: $b = \frac{\sum C_i A_i}{\sum C_i^2}$

$$\text{对上述第二组数据有: } b = \frac{56.592}{2425} = 0.02306 \quad \hat{A} = 0.02306C$$

$$\text{这时 } b \text{ 的标准差为: } S_b = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}^2}{\sum C_i^2}}$$

其中

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{Q}{n-2} = \frac{\sum A_i^2 - b^2 \sum C_i^2}{n-2}$$

检验 b 与零有无显著差异的统计量为:

$$t_b = \frac{b}{S_b} \sim t(n-2)$$

$$t_b = \frac{0.02306}{\sqrt{\frac{1.305 - 0.02306^2 \times 9.714}{(14-2) \times 2454}}} = 3.4704$$

$$t_b = 3.4704 > t_{0.01}^{(12)} = 3.055$$

经检验 b 与零有极显著差异, 说明标准工作曲线 $\hat{A} = 0.02306C$ 的效果是极显著的, 可以投入使用。

4 标准曲线修正前后的比较

现用修正前后的回归方程进行结果计算, 得如下数据:

附表 方程修正前后结果计算比较

A	C(NO ₂ μg/50mL)	A = 0.02306C ₁		A = a + 0.02294C ₂	
		C ₁	相对误差(%)	C ₂	相对误差(%)
0.011	0.500	0.477	0.60	0.385	23.00
0.018	0.800	0.781	2.40	0.690	13.80
0.023	1.000	0.997	0.30	0.908	9.20
0.345	15.000	14.960	0.27	14.950	0.30
0.692	30.000	30.010	0.04	30.070	0.23

附表说明修正后的回归方程符合标准曲线要求, 其计算结果也更加接近理论值。

注: 本文得到袁志发教授的指导, 特致谢意。

参 考 文 献

- 1 袁志发. 概率基础与数理统计. 北京: 农业出版社, 1989
- 2 四川省环境科学学会. 环境监测常用数理统计方法. 成都: 四川科技出版社, 1983
- 3 于如暇. 分析化学. 北京: 人民卫生出版社, 1987
- 4 宋清. 定量分析中的误差和数据评价. 北京: 高等教育出版社, 1984