

Linearidade

Linearidade de um procedimento analítico é a sua habilidade (dentro de uma dada faixa) em obter resultados os quais são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (ICH, 2005). A maioria dos equipamentos de medição existentes estabelece a sua faixa dinâmica linear. É necessário, entretanto, verificar até que ponto a faixa de concentração do analito coincide com a faixa dinâmica linear e assegurar que nenhum outro fenômeno tenha impacto indesejável na resposta.

A linearidade de um método não pode ser observada apenas por meio do gráfico dos resultados de resposta em função da concentração do analito. Para o estudo deste parâmetro, é necessário investigar a melhor função $f(x)$ que representa o comportamento linear esperado. Neste contexto, o estudo desta equação deve ser realizado através de alguns testes e avaliações estatísticas, que são definidos a seguir.

3.1.1 Resíduos

Os desvios verticais (y) de cada ponto da linha reta são chamados resíduos, e através deles é possível estimar os erros aleatórios na direção y .

Os resíduos apresentam os valores absolutos e/ou relativos (percentual) da diferença entre o valor experimental (observado) e o valor teórico (calculado), obtido através da respectiva equação da regressão linear. Os resíduos absolutos em y são apresentados como a soma total dos quadrados dos resíduos, SS_{tot} , é a medida da variação total nos valores de y observados, porque os desvios são medidos a partir do valor médio de y , e pode ser definida como:

$$SS_{\text{tot}} = S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N}$$

Ou

$$res_{rel} = \frac{\bar{y}_i - y}{\bar{y}_i} \times 100 \quad res_{abs} = \bar{y}_i - y$$

Onde:

y = resposta instrumental

\bar{y} = média de todos os valores de y encontrados

Para a obtenção da “melhor função”, é necessário que a soma dos quadrados dos resíduos absolutos, para todos os pontos, seja minimizada. Esta minimização é realizada

através da Regressão Linear pelo Método dos Mínimos Quadrados (item 1.3.1.2.). Este método, além de fornecer o melhor ajuste entre os pontos experimentais e a linha reta, também fornece os desvios padrão para *m* ou *a* e para *b* (item 1.2.9.1.), de acordo com a técnica de cálculo de minimização adequada (itens 1.2.1.8. e 1.2.1.9).

3.1.2 Equação da reta

Se trata de um “modelo” que pretende prever os resultados de *y* a partir de qualquer valor de *x*, que considerando que a resposta analítica deve ser diretamente proporcional à concentração, pois se trata de um estudo de “linearidade”, esse modelo necessariamente será uma equação de primeiro grau, ou seja, a equação que descreve um reta. (GUIA nº 10, versão 1, de 30 de agosto de 2017)

É uma linha de regressão calculada e usada na prática para estimar as concentrações dos materiais de teste por interpolação e talvez também para estimar o limite de detecção do procedimento analítico.

Um processo de quantificação requer que se conheça a relação entre a resposta medida e a concentração do analito. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real.

A equação da reta é obtida através da regressão linear dos pontos construídos pela relação concentração/sinal (*x,y*). É considerada para o processo de validação, pois oferece informações matemáticas que relacionam a resposta instrumental medida com a concentração do analito, através do coeficiente angular e coeficiente linear. Ela é estabelecida como:

$$y = mx + b$$

ou

$$y = ax + b$$

Onde:

y = resposta instrumental

b = coeficiente linear - Inclinação da curva de calibração (sensibilidade)

a = *m* = coeficiente angular - Interseção com o eixo *y*, quando *b* = 0.

x = concentração do analito na solução padrão de calibração.

E:

$$a = \frac{\sum y_i - b \sum x_i}{n} = \bar{y} - b\bar{x}$$

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

Onde:

x_i : valores individuais de concentração;

y_i : valores individuais de sinal instrumental;

\bar{x} : média de valores de x (concentração);

\bar{y} : média de valores de y (sinal instrumental).

3.1.3 Regressão Linear por Mínimos Quadrados (MMQ)

O método dos mínimos quadrados encontra a soma dos quadrados dos resíduos (SSresid) (item 1.2.1.2), que estima os erros aleatórios na direção y, e os minimiza de acordo com a técnica de cálculo de minimização adequada (itens 1.2.1.8. e 1.2.1.9). As suposições do modelo ajustado precisam ser validadas para que os resultados sejam confiáveis.

Chama-se de Análise dos Resíduos um conjunto de técnicas utilizadas para investigar a adequabilidade de um modelo de regressão com base nos resíduos. Portanto, retomando as definições de resíduo e da equação da reta, percebe-se a importância da verificação dos erros aleatórios nos valores da inclinação e interceptação.

A interpolação ou regressão é um ajustamento que tem como objetivo tratar um valor que não se consegue estimar inicialmente, ou seja, é processo de obtenção dos valores de uma função dentro de um intervalo mediante o conhecimento de seu comportamento nos extremos desse intervalo. É utilizada para estabelecer uma equação e estimar a condicional (valor esperado) de uma variável, dados os valores de algumas outras variáveis, isto é, uma aproximação para uma função $f(x)$, e dentre vários métodos, que ela pode ser obtida, neste estudo foi utilizado o Método dos Mínimos Quadrados.

A regressão é chamada de "linear" quando a relação da resposta entre as duas variáveis se dá através de uma função linear de alguns parâmetros (equação da reta). Desta forma, a regressão linear fornece um meio para a obtenção, de forma objetiva, da "melhor linha" que relaciona concentração do analito (x) e sinal obtido (y), para especificar as incertezas associadas com o seu uso subsequente.

Como citado, existem vários modelos matemáticos para realizar a regressão linear. O método dos Mínimos Quadrados é um dos modelos mais utilizados e exigidos pelos protocolos de validação de métodos analíticos. Na regressão linear realizada pelo ConfLab, este é o modelo utilizado.

Resumidamente, se existe uma relação verdadeiramente linear entre a resposta medida y e a concentração analítica do padrão x , a relação matemática que descreve essa consideração é denominada modelo de regressão, que pode ser representada através da equação da reta.

3.1.4 Coeficiente de Correlação (r)

É um indicador do grau de correlação entre as duas variáveis (x, y) que estão sendo estudadas (concentração/sinal). É utilizado para estimar quanto exatamente os pontos experimentais se ajustam a uma linha reta.

O coeficiente de correlação r é igual à covariância de x e y dividido pelo produto de seus desvios padrão; portanto, se x e y não estiverem relacionados, r também estará próximo de zero.

3.1.5 Coeficiente de Determinação (r^2)

Mensura a fração da variação observada em y que é explicada pela relação linear.

Avalia o mesmo que o coeficiente de correlação, porém considera seu valor ao quadrado, para que valores negativos sejam compensados.

O coeficiente de determinação mede a fração da variação observada em y que é explicada pela relação linear e é fornecida por:

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{\text{resid}}}{SS_{\text{tot}}}$$

Onde:

R^2 : coeficiente de determinação

SS_{resid} : soma dos quadrados dos resíduos

SS_{Tot} : soma dos quadrados totais

3.1.6 Teste de outliers

Antes de fazer a regressão linear, alguns testes estatísticos devem ser realizados.

A verificação da ausência de valores aberrantes (em inglês, *outliers*) para cada nível de concentração, é um dos testes que devem ser realizados.

O teste para verificação de *outliers* pode ser realizado por vários modelos matemáticos como Teste de *Grubbs* (ISO 5725-3, 1994 e ISO 5725-2, 1994) ou com base nos resíduos padronizados *Jackknife* (SOUZA e JUNQUEIRA, 2005).

Para as verificações realizadas pelo ConfLab foram por meio do Teste de *Grubbs* (G).

Este modelo compara o desvio do valor suspeito da média da amostra com o desvio padrão da amostra. O valor suspeito é o valor mais distante da média. Os valores obtidos são comparados com valores críticos tabelados para o valor de “G”. Se o valor calculado de “G” exceder o valor crítico tabelados, o valor suspeito será rejeitado.

$$G = \frac{|valor - \bar{x}|}{s}$$

Em que:

Valor: valor suspeito;

\bar{x} : é a média amostral;

s: é o desvio padrão amostral.

O ConfLab realiza a verificação de outlier de duas maneiras diferentes:

- ✓ *Outlier* para resíduos totais: avalia valores discrepantes de resíduos considerando todo o conjunto de dados, contemplando todas as replicatas em todos os níveis. Ou seja, avalia outliers relativo ao conjunto de dados totais, baseado nos resíduos absolutos.
- ✓ *Outlier* para resíduos por níveis: avalia valores discrepantes de resíduos considerando apenas as replicatas do respectivo nível avaliado. Ou seja, verifica outliers dentro do nível estudado, baseado nos desvios relativos.

3.1.7 Avaliação da Homocedasticidade (Teste Cochran)

Assim como o teste de outliers deve ser realizado antes de realizar regressão linear, outra verificação que deve ser realizada é a igualdade, ou não, das variâncias dos resultados absolutos experimentais entre os diferentes níveis de concentração. Esta análise é realizada através da avaliação da homocedasticidade dos dados, isto é, a homogeneidade da variância dos resíduos, que pode ser realizada através dos Testes de Cochran (ISO 5725-3:1994), Levene (SOUZA e JUNQUEIRA, 2005) ou de Brown-Forsythe (SOUZA; JUNQUEIRA, 2005). O ConfLab avalia a homocedasticidade através do Teste de Cochran.

$$C = \frac{s_{max}^2}{\sum_{i=1}^k s_i^2} = \frac{\text{maior variância}}{\text{soma de todas as variâncias'}}$$

$$s_i^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2;$$

Onde:

k: representa o número de níveis do fator;

s_i^2 : representa a variância amostral;

n: representa o número de medidas em cada nível do fator.

Esta verificação da homogeneidade de variâncias é realizada para decidir sobre o tipo de regressão que deve ser realizada, que pode ser ordinária (item 1.1.1.7) ou ponderada (item 1.2.1.8).

O Teste de Cochran é realizado da seguinte forma: a maior variância é comparada com as demais dividindo uma pela outra. O valor do encontrado é comparado com um valor tabelado. Se o valor calculado for menor que o tabelado significa que as variâncias dos resíduos possuem uma homogeneidade, portanto seu comportamento é homocedástico. Porém se o valor calculado for maior do que o valor tabelado, significa que as variâncias dos resíduos não possuem uma homogeneidade, então o comportamento das variâncias é heterocedástico.

Quando a variância dos resíduos possui comportamento homocedástico, a regressão linear ou interpolação polinomial é realizada através do Método dos Mínimos Quadrados Ordinários. Porém, se o comportamento da variância dos resíduos for heterocedástico, a regressão deve ser realizada através dos Mínimos Quadrado Ponderados.

3.1.8 Regressão dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO)

Dado um modelo de regressão linear a hipótese de homocedasticidade implica que a variância do erro experimental é a mesma para todas as observações, isto é, quando as variâncias dos resíduos ocorrem de forma homogênea, os pesos w_i iguais (item 1.3.1.8), e a equação fica da seguinte forma:

<p>Coefficiente Linear Ordinário:</p> $b = \bar{y} - a \cdot \bar{x}$	<p>Coefficiente Angular Ponderado:</p> $a = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$
---	--

Desta forma, para um cálculo de regressão em que os erros aleatórios em diferentes pontos da calibração se mantém à medida que a concentração aumenta, a linha de regressão deve ser calculada com o mesmo peso para todos os pontos, pois como as variâncias dos

resíduos se mantêm, conseqüentemente o desvio padrão também, o que implica que o peso w_i , para todos os níveis de concentração, possui o mesmo valor, portanto, considerado como 1 para ordinária.

3.1.9 Regressão dos Mínimos Quadrados Ponderada (MMQP)

Como já citado, até este ponto foi considerado que qualquer desvio de pontos individuais da linha reta foi decorrente de erros na medida, isto é, que não ocorrem erros nos valores de x dos pontos, apenas em y (sinal/erros aleatórios).

Porém, sempre que existe uma incerteza significativa nos dados contidos em x , e a análise linear dos mínimos quadrados pode não fornecer a melhor linha reta. Nesse caso, uma análise de correlação mais complexa pode ser necessária. Além disso, a análise dos mínimos quadrados simples pode não ser apropriada quando as incertezas nos valores de y variam significativamente em relação a x . Dessa forma, pode ser necessário aplicar diferentes pesos aos fatores e realizar uma análise de mínimos quadrados.

Quando os erros em um cálculo de regressão são aproximadamente proporcionais às concentrações do analito, ou seja, se os erros aleatórios, em diferentes pontos da calibração, aumentam à medida que a concentração aumenta, a linha de regressão deve ser calculada para dar peso (w_i) adicional aos pontos em que os valores dos erros são menores.

É mais importante que a linha calculada passe perto desses pontos do que passe perto dos pontos que representam maiores concentrações com os maiores erros. Este resultado é alcançado atribuindo a cada ponto uma ponderação inversamente proporcional à variância correspondente. Este procedimento lógico se aplica a todos os cálculos de regressão ponderada, não apenas aos onde o erro de direção y é proporcional a x .

Assim, a justificativa para esta conclusão é que, considerando pontos individuais de um ensaio e seus respectivos desvios padrão, os pesos individuais são dados por:

$$w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2}/n}$$

Onde:

w_i : peso

n : número de observações no nível

s : desvio padrão

s^2 : variância

Porém, neste caso, diferente da regressão por MMQO, para um cálculo de regressão em que os erros aleatórios (ou variâncias), em diferentes pontos da calibração, aumentam à medida que a concentração aumenta, a linha de regressão deve ser calculada com pesos proporcionais aos as concentrações, pois como as variâncias dos resíduos absolutos são proporcionais as concentrações, consequentemente os desvios são padrão também, o que implica que o peso w_i , de ser ponderado para todos os níveis de concentração individualmente.

Considerando que cada uma das n observações podem não gerar a mesma variabilidade nos resíduos, para determinar o peso que cada observação terá sobre os estimadores, utiliza-se a ideia de que o peso atribuído a uma observação é inversamente proporcional a variância, em outras palavras, consideramos que as observações que causam maior variabilidade nos resíduos têm menor confiabilidade em termos de inferência para os parâmetros da função de regressão. De maneira análoga, as observações com menor variância são mais confiáveis.

O MMQO também pode ser entendido como um caso particular do MMQP no qual o fator de ponderação é igual a 1.

A inclinação e a interceptação da linha de regressão ponderada são dadas por:

Coeficiente Linear	Coeficiente Linear
$b = \bar{y}_w - a \cdot \bar{x}_w$	$a_w = \frac{\sum_{i=1}^n (w_i x_i y_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w)}{\sum_{i=1}^n (w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2)}$

A inclinação e a interceptação da linha ponderada são notavelmente semelhantes às da linha não ponderada. Na prática, as linhas de regressão ponderadas e não ponderadas derivadas de um conjunto de dados experimentais têm inclinações e interceptações semelhantes, mesmo que a dispersão dos pontos sobre a linha seja substancial.

Porém, o centroide da reta ponderada está muito mais próximo da origem do gráfico do que o centroide não ponderado e a ponderação atribuída aos pontos mais próximos da origem (podendo ser particularmente ao primeiro ponto - que possui o menor erro) garante que a linha de regressão ponderada tenha um intercepto muito próximo deste ponto. As coordenadas do centroide ponderado de coordenadas y_w e x_w , através do qual a linha de regressão ponderada deve passar, são mostrados na equação abaixo.

$$\bar{x}_w = \sum_i w_i x_i / n \text{ and } \bar{y}_w = \sum_i w_i y_i / n.$$

3.1.10 Testes de Resíduos

Como visto, para a Regressão Linear, as suposições do modelo ajustado precisam ser validadas para que os resultados sejam confiáveis. Através da Análise dos Resíduos um

conjunto de técnicas utilizadas para investigar a adequabilidade de um modelo de regressão com base nos resíduos. Como visto anteriormente, o resíduo é dado pela diferença entre a variável resposta observada e a variável resposta estimada.

Portanto, após a determinação da melhor forma de regressão e encontrada a equação que define a melhor linha, a validação desta regressão é realizada através de mais alguns testes estatísticos. Para a análise formal dos resíduos, podemos realizar os seguintes testes:

Testes de Normalidade em que detalhes estão contidos no conteúdo de Inferência;

Teste de Durbin-Watson para testar independência dos resíduos;

Teste F para análise de significância de variâncias (ANOVA);

Teste de Significância para Intercepto

Para este estudo, como o software utilizado foi o ConfLab, dentre os testes citados os que são realizados através do ConfLab são:

3.1.11 Teste de Normalidade para Resíduos (Shapiro-Wilk)

Os testes de normalidade são utilizados para verificar se a distribuição de probabilidade associada a um conjunto de dados pode ser aproximada pela distribuição normal. Embora o desvio padrão forneça uma medida da dispersão de um conjunto de resultados sobre o valor médio, ele não indica o formato da distribuição.

A distribuição normal é a gaussiana de um determinado conjunto de valores. Quanto maior o valor de desvio padrão do conjunto, maior a dispersão da curva, portanto para avaliar se os resíduos apresentam uma distribuição normal, é necessário que a curva encontrada através do conjunto de dados dos resíduos seja simétrica em torno de média aritmética de todo o conjunto.

Quaisquer que sejam os valores do desvio padrão do conjunto (σ) e da média aritmética do conjunto (μ), a distribuição normalmente tem as seguintes propriedades:

Aproximadamente 68% dos valores da população estão dentro de $\pm 1\sigma$ da média

Aproximadamente 95% dos valores da população estão dentro de $\pm 2\sigma$ da média

Aproximadamente 99,7% dos valores da população estão dentro de $\pm 3\sigma$ da média.

Através do teste de Shapiro-Wilk, também conhecido como Estatística W, é possível realizar esta verificação, pois como a maioria dos testes de significância estatística, ele testa se a diferença entre um conjunto de dados, através de uma comparação da média experimental com um valor conhecido, é significativa ou se pode ser explicada apenas por variações aleatórias.

$$W = \frac{b^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Ao fazer um teste de significância, estamos testando a verdade de uma hipótese conhecida como hipótese nula, neste caso, que os resíduos possuem distribuição normal. Depois que obter os valores de W , deve ser estabelecido o nível de significância do teste, normalmente 0,05, e então valor obtido de W é comparado à um valor tabelado respectivo às constantes geradas pelas médias, variâncias e covariâncias das estatísticas de ordem de uma amostra de tamanho n de uma distribuição Normal.

Para tomar a decisão, se $W_{\text{calculado}} < W_{\text{tabelado}}$ (os valores críticos da estatística W de Shapiro-Wilk), deve-se rejeitar a hipótese nula ao nível de significância estabelecido, isto é, que os resíduos possuem distribuição normal. Porém, se $W_{\text{calculado}} > W_{\text{tabelado}}$, os resíduos possuem distribuição normal.

3.1.12 Teste de Independência para Resíduos (Durbin-Watson)

O teste de independência para resíduos avalia a presença de autocorrelação nos erros de um modelo de regressão, através do Teste Durbin-Watson, no software. A autocorrelação significa que os erros de observações adjacentes são correlacionados.

A estatística Durbin-Watson (DW) é um teste de autocorrelação nos resíduos de uma análise de regressão estatística que sempre terá um valor entre 0 e 4. Um valor de 2,0 significa que não há autocorrelação detectada na amostra. Valores de 0 a menos de 2 indicam autocorrelação positiva e valores de 2 a 4 indicam autocorrelação negativa.

A fórmula para a estatística Durbin-Watson é bastante complexa, mas envolve os resíduos de uma regressão ordinária de mínimos quadrados em um conjunto de dados.

O primeiro passo no cálculo da estatística Durbin-Watson é calcular os valores esperados de y usando a linha da equação de melhor ajuste (equação da reta). A seguir, são calculadas as diferenças dos valores reais y versus os valores esperados \hat{y} , isto é, os erros. Em seguida, esses erros devem ser elevados ao quadrado e somados. O valor do erro menos o erro anterior é calculado e elevado ao quadrado. Finalmente, a estatística Durbin-Watson é o quociente dos valores ao quadrado:

$$DW = \frac{\sum_{t=2}^T (\hat{e}_t - \hat{e}_{t-1})^2}{\sum_{t=1}^T (\hat{e}_t)^2}$$

3.1.13 ANOVA - *Análise de Variância*

A partir da definição do modelo através do Teste de Cochran, obtém-se a equação da reta que será utilizada para cálculo dos valores esperados da regressão, que serão necessários para a ANOVA.

Análise de Variância acontece através de um teste de significância, em que há mais de uma fonte de variação aleatória. No caso da validação de métodos, avalia se uma determinada reta de regressão estimada explica satisfatoriamente a relação existente entre a concentração e o sinal., isto é, verifica se realmente há variação significativa da resposta do método em decorrência da variação da concentração, ou seja, se y efetivamente varia em relação a x , com base nos dados de variância. Dependendo do método utilizado (MMQO ou MMQP), a Anova tem fatores diferentes para o cálculo.

A ANOVA é realizada por meio da avaliação de todas as fontes de variação do sistema:

Regressão: variação das respostas analíticas em relação ao centroide (amplitude do modelo)

Resíduos: variação das respostas analíticas reais em relação ao modelo (erros)

Total: soma das variações da regressão e dos resíduos.

Para que seja comprovado que y realmente varia em função de x (comprovação fundamental para a linearidade), é necessário demonstrar que a variação devida à regressão (modelo) é suficientemente maior que a devida ao erro (resíduos).

No software, a ANOVA é calculada através do Teste F. Este teste compara os desvios padrão, ou seja, os erros aleatórios de dois conjuntos de dados, considerando a relação entre as variações de amostra, isto é, a relação dos quadrados dos desvios padrão, através de um teste de hipótese.

Como a análise é realizada com base nas variâncias dos resíduos e, a soma dos quadrados dos resíduos, SS_{resid} (item 1.3.1.1,) é a medida da variação nos valores observados das variáveis dependentes (valores de y), que não são explicados pela relação linear prevista entre x e y , e que soma dos quadrados devido à regressão, SS_{regr} (item 1.3.1.1), é a diferença entre SS_{tot} e SS_{resid} , a ANOVA, quando as variâncias são homocedásticas, é calculada da seguinte forma através do Teste F (F calculado):

$$F = \frac{SS_{\text{regr}}/1}{SS_{\text{resid}}/n-2}$$

Bem como, quando as variâncias são heterocedásticas, a ANOVA, calculada através do Teste F a partir da regressão ponderada (F calculado):

$$F = \frac{\sum_{i=1}^n w_i x (y - \bar{y})^2 / 1}{\sum_{i=1}^n w_i x (y_i - y)^2 / n - 2}$$

3.1.14 Teste de Significância para Intercepto (Teste t)

Outro tipo de teste de significância utilizado nos estudos de linearidade, é o Teste T. Ele é usado, pelo Conflab para avaliar se há diferença estatística significativa entre o valor médio do coeficiente linear (intercepto) e o valor "0".

Essa abordagem testa se a diferença entre os dois resultados é significativa ou se pode ser explicada apenas por variações aleatórias.

Este método pode pressupor que as amostras sejam retiradas de populações com igual desvio padrão. Esse será o caso se o erro de medição para cada método for normalmente distribuído e a precisão e tendência (Bias) (se houver) de cada método forem constantes no intervalo de valores para os quais as medições foram feitas.

Teste t - comparação de valores médios experimentais com variâncias equivalentes

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1) \times s_1^2 + (n_2 - 1) \times s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

Para testar a hipótese nula $H_0: (s_1 = s_2)$ quando não se pode assumir que as duas amostras provêm de populações com desvios padrão iguais, é calculada a estatística t, onde:

Teste t - comparação de valores médios experimentais com variâncias diferentes

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$deg. of Freedom = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2 \times (n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2 \times (n_2 - 1)}\right)}$$

Utilizando a diferença, d (média – desvio padrão (μ)) entre cada par de resultados dados pelos dois métodos (valor médio b experimental e o valor “0”), se não houver diferença entre eles, essas diferenças serão obtidas de uma população com média $\mu_d = 0$. Para testar a hipótese nula, testamos se difere significativamente de 0 usando a estatística T. (HARRIS, 2010)

Teste t -comparação de valor médio experimental com valor conhecido (t calculado)

$$t = (\bar{x} - \mu) \times \frac{\sqrt{n}}{s}$$

O teste emparelhado descrito acima não exige que as precisões dos dois métodos sejam iguais, mas assume que as diferenças, d, são normalmente distribuídas.

O valor ‘0’ do Intercepto é dado quando na equação da reta abaixo, $a = 0$ e a reta intercepta o eixo y. A equação 1 é a equação de regressão realizada de forma ordinária, e a equação 2 de forma ponderada, na qual w representa a ponderação.

$$b = \bar{y} - a \cdot \bar{x} \qquad b = \bar{y}_w - a \cdot \bar{x}_w$$