

Semestrální práce

Předmět: ***Kalibrace a její limity***

Projekt dvouletého licenčního studia chemometrie:
Statistické zpracování dat při managementu jakosti

Vypracovala: Ing. Martina Jelínková
Baxter BioScience s.r.o.
Bohumile

Úloha 1.

Lineární kalibrace

Zadání Číslicový tlakoměr Beamex MC5 – 255140 68 byl kalibrován v akreditované laboratoři. Jako etalon byl použit pístový tlakoměr DH 23410. V provozu byly Beamexem MC5 naměřeny hodnoty 1,5 bar, 3,5 bar a 5,5 bar. Určete skutečné hodnoty naměřeného tlaku.

Data

Č M	Etalon [bar]	Měřidlo [bar]
1	0,00	0,0000
2	0,60	0,5999
3	1,20	1,2000
4	1,80	1,8000
5	2,40	2,4001
6	3,00	3,0000
7	3,60	3,6003
8	4,20	4,2001
9	4,80	4,8001
10	5,40	5,4003
11	6,00	6,0006

Program QC EXPERT 2.7

1. Regrese, lineární regrese
2. Kalibrace

Řešení

1 Posouzení dat

Cílem je posoudit data před vlastním provedením kalibrace. Sleduje se výskyt vlivných bodů, které mohou způsobit zkreslení odhadů a růst rozptylů a tím i nepoužitelnost navržené kalibrace.

Vlivné body se dělí podle výskytu na:

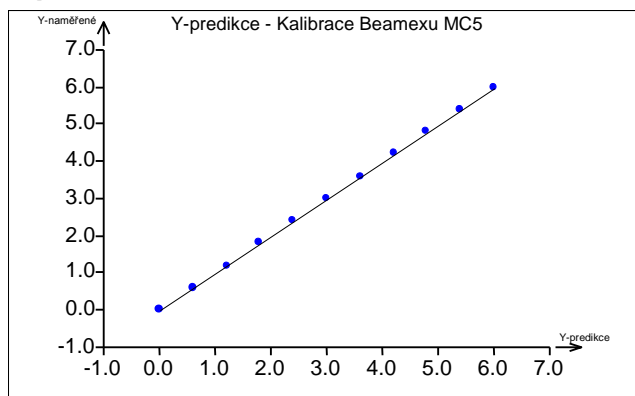
- vybočující (outliers) lišící se v hodnotách závisle proměnné y od ostatních bodů
- extrémny (high leverage points)

Pro diagnostiku dat se používají grafické diagnostiky, statistická analýza residuí (vybočující) a diagonálních prvků projekční matice (extrémny).

1.1 Grafické diagnostiky

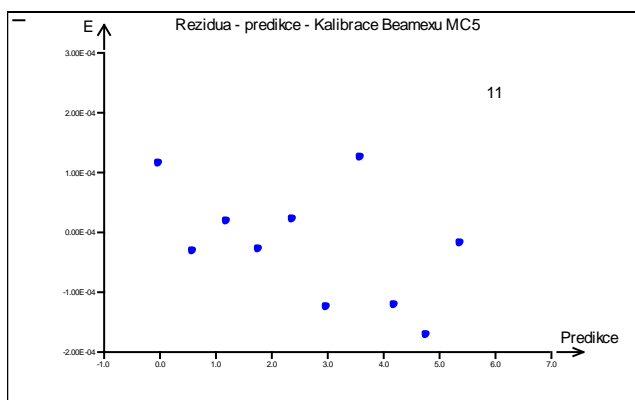
1.1.1 Grafy reziduí

Y-predikce



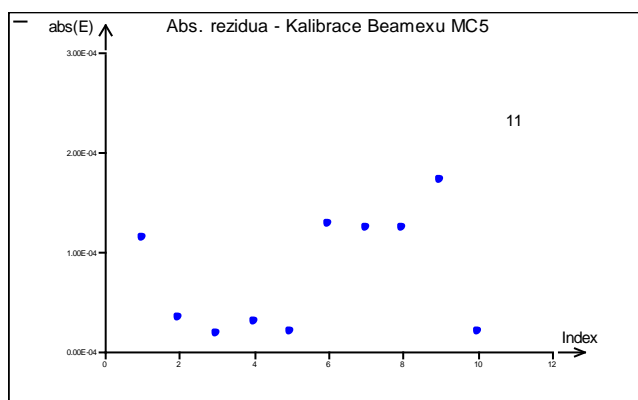
Graf vyjadřuje těsnost proložení. Z grafu je zřejmé, že těsnost proložení je přijatelná a neidentifikují se vybočující body.

Rezidua vs. Predikce



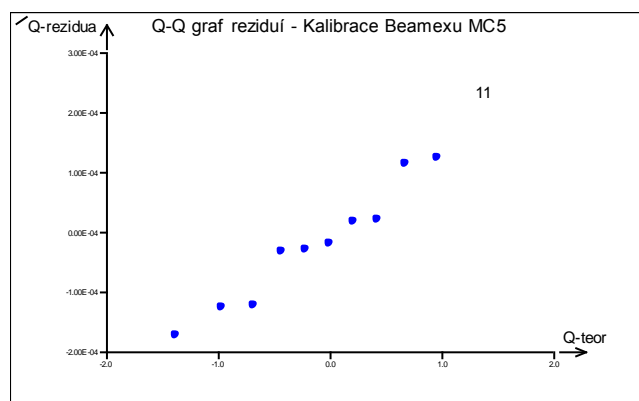
Graf normovaných reziduí. Vodorovná přímka odpovídá průměru reziduí. Průměr reziduí je roven nule. Bod č. 11 by mohl být vybočující.

Absolutní rezidua



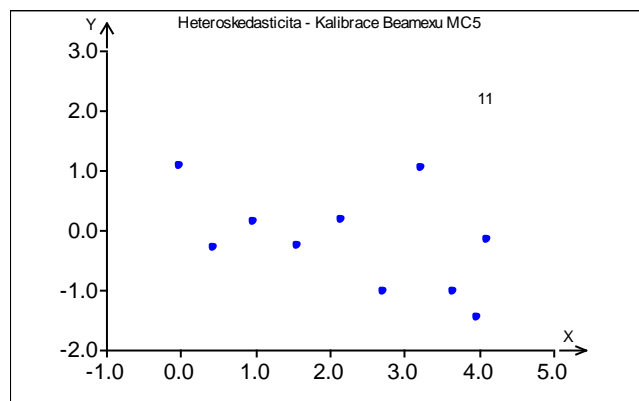
Graf absolutní hodnoty reziduí. Vodorovná přímka odpovídá absolutní chybě. Bod č. 11 je podezřelý na vybočující bod.

Q-Q graf reziduí



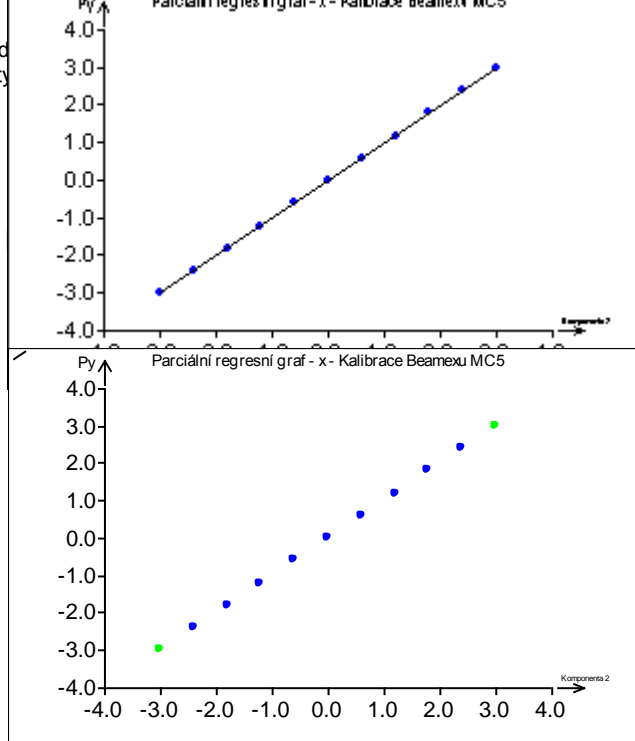
Q-Q graf posuzuje normalitu reziduí. Přímka odpovídá normálnímu rozdělení reziduí. Bod č. 11 je podezřelý.

Heteroskedasticita



Body nejsou ve tvaru výšeče. Můžeme předpokládat nepřítomnost heteroskedasticity. V datech není trend a nekonstantní rozptyl. Bod č. 11 je podezřelý.

1.1.2

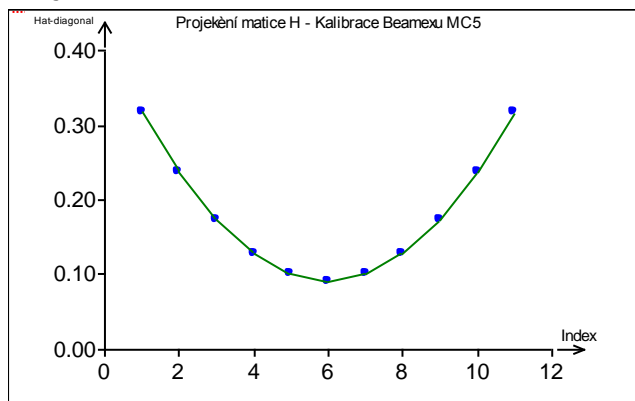


Graf vyjadřuje závislost závisle proměnné na zvolené jediné nezávisle proměnné s eliminací vlivu ostatních nezávisle proměnných.

1.1.3

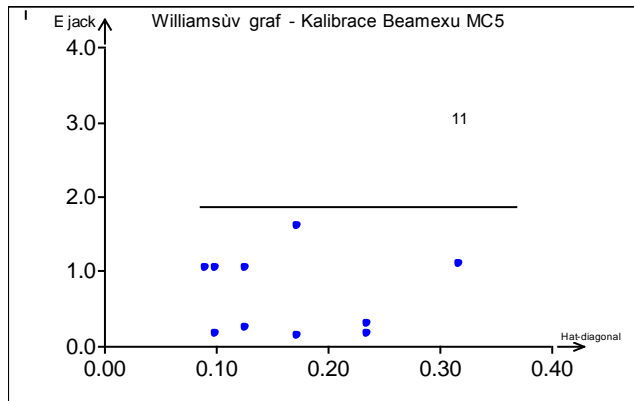
Vlivná data

Projekční matice H



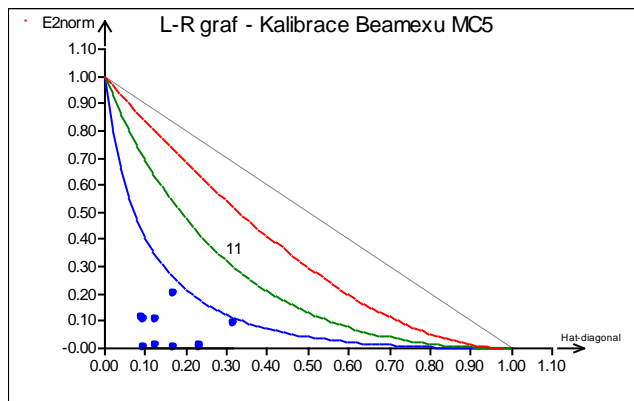
Nad vodorovnou přímkou se nevyskytují žádné body. Graf neindikuje žádné silně vlivné body.

Williamsův graf



Williamsův graf indikuje vlivné i vybočující body. Nad vodorovnou přímkou je bod č. 11 – je silně vybočující.

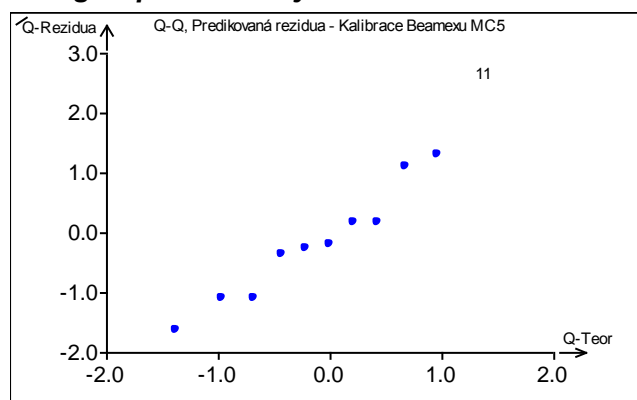
L-R graf



Hyperbolické křivky jsou linie stejného vlivu. Bod č. 11 se nachází ve vlivné linii, proto ho můžeme považovat za vlivný.

1.1.4 Rankitové grafy

Q-Q graf predikovaných reziduí



Q-Q graf predikovaných reziduí ukazuje bod č. 11 jako odlehlý. Body se nachází v těsné blízkosti přímky, to odpovídá normálnímu rozdělení predikovaných reziduí.

1.1.5 Závěr grafické diagnostiky

Z grafické diagnostiky vyplývá:

- Můžeme předpokládat nepřítomnost heteroskedasticity.
- Rozdělení reziduí odpovídá normálnímu
- Bod č. 11 je odlehlý

1.2 Statistická analýza reziduí

Analýza rozptylu

Průměr Y :	3,000127273		
Zdroj	Součet čtverců	Průměrný čtverec	Rozptyl
Celková variabilita	39,6063604	3,600578218	3,96063604
Variabilita vysvětlená modelem	39,60636026	3,600578205	3,960636026
Reziduální variabilita	1,464545455E-007	1,331404959E-008	1,464545455E-008
Hodnota kritéria F :	2433910407		
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) :	5,117355029		
Pravděpodobnost:	2,941034915E-039		
Závěr:	Model je významný		

Testování regresního tripletu

Fisher-Snedecoruv test významnosti modelu

Hodnota kritéria F : 2433910407
 Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) : 5,117355029
 Pravděpodobnost: 2,941034915E-039
 Závěr: Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC : 0,333333329
 Závěr: Model vykazuje multikolinearitu!

Cook-Weisberguv test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW : 1,896197769
 Kvantil $\chi^2(1-\text{alfa}, 1)$: 3,841458829
 Pravděpodobnost: 0,1685045278
 Závěr: Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berruv test normality

Hodnota kritéria JB : 0,4631450778
 Kvantil $\chi^2(1-\text{alfa}, 2)$: 5,991464547
 Pravděpodobnost : 0,7932851494
 Závěr: Rezidua mají normální rozdělení.

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg : 1,953759676
 Kvantil $N(1-\text{alfa}/2)$: 1,959963999
 Pravděpodobnost : 0,05072964518
 Závěr: V reziduích není trend.

Analýza reziduí							
Index	Standardní	Jackknife	Predikované	Diag(Hii)	Diag(H*ii)	Cookova vzdál.	
1	1,07882963	1,090051801	0,0001666666667	0,3181818182	0,4063540432	0,2517269137	
2	-0,3098970471	-0,2937451726	-4,523809523E-005	0,2363636364	0,2445121607	-0,04796025729	
3	0,1488697261	0,1405288542	2,087912088E-005	0,1727272727	0,1747644038	0,01554134504	
4	-0,259368234	-0,2454537777	-3,541666666E-005	0,1272727273	0,1337960612	-0,01891226706	
5	0,1727761225	0,1631657128	2,323232324E-005	0,1	0,1029851589	0,009598673474	
6	-1,04640913	-1,052676213	-0,00014	0,09090909091	0,20151233	-0,05232045649	
7	1,02914473	1,032969854	0,0001383838384	0,1	0,2059138875	0,05717470721	
8	-1,037472936	-1,042459354	-0,0001416666667	0,1272727273	0,2316460696	-0,07564906826	
9	-1,480862012	-1,605388653	-0,0002076923077	0,1727272727	0,374301676	-0,1545954848	
10	-0,1794140799	-0,1694565274	-2,619047619E-005	0,2363636364	0,2390948592	-0,02776646475	
11	2,200812445	3,053290134	0,00034	0,3181818182	0,6851193499	0,5135229039	

Analyza vlivu						
Index	Atkinsonova vzdál.	Andrews-Pregibon st.	Vliv na Y^{\wedge}	Vliv na parametry LD(b)	Vliv na rozptyl LD(s)	Celkový vliv LD(b,s)
1	1,579635131	0,5936459568	0,7446471422	0,6445789834	0,01039904585	0,7035232538
2	0,3466761988	0,7554878393	-0,1634247274	0,03627128134	0,03826146729	0,07164601919
3	0,1362159196	0,8252355962	0,06421280028	0,005654100748	0,04597689336	0,05113099801
4	0,1988402858	0,8662039388	-0,09373420966	0,01198405942	0,04119140911	0,05217403669
5	0,115375582	0,8970148411	0,05438857093	0,0040531726	0,04514487318	0,04884251899
6	0,7061566709	0,79848767	-0,332885447	0,1330223516	0,00658968435	0,1451055854
7	0,7304199887	0,7940861125	0,3443232847	0,1429014228	0,004963984606	0,1531621401
8	0,844488595	0,7683539304	-0,3980957414	0,19019563	0,005714918774	0,203815193
9	1,556118086	0,625698324	-0,7335611005	0,5458478645	0,198076059	0,8707159191
10	0,1999915242	0,7609051408	-0,09427690862	0,01217074047	0,04489323181	0,05600340118
11	4,424637765	0,3148806501	2,085794245	2,46467995	3,203374952	8,641546995

1.2.1 Závěr Statistické analýzy reziduí

Z Statistické analýzy reziduí vyplývá:

- Rezidua vykazují homoskedasticitu.
- Rezidua mají normální rozdělení.
- V reziduích není trend.
- Bod č. 11 je odlehlý a protože naměřené hodnoty nejsou v jeho blízkosti, bude tento bod vyjmut.

1.3 Závěr

Bod č. 11 je odlehlý bod, což by mohlo způsobit zkreslení odhadů a růst rozptylů a tím i zkreslenost navržené kalibrace. Vzhledem k tomu, že naměřené hodnoty nejsou v blízkosti tohoto bod bude bod vyjmut.

2 Kalibrace

Regresní diagnostikou bylo stanoveno, že bod č. 11 bude vyjmut.

Kalibrační křivka byla sestavena z níže uvedených bodů:

Č M	Etalon [bar]	Měřidlo [bar]
1	0,00	0,0000
2	0,60	0,5999
3	1,20	1,2000
4	1,80	1,8000
5	2,40	2,4001
6	3,00	3,0000
7	3,60	3,6003
8	4,20	4,2001
9	4,80	4,8001
10	5,40	5,4003

2.1 Statistická analýza

Název úlohy : Kalibrace Beamexu MC5

Data: Všechna

Počet dat: 10

Hladina významnosti : 0,05

Volba kalibračního modelu : Automatická

Použitý kalibrační model : Lineární

Vhodnost použitého modelu : Vyhovuje

Použita vážená regrese : Ne

Parametry kalibračního modelu

Parametr	Odhad	Sm. odchylka	Spodní mez	Horní mez
Abs.	-6,73E-05	5,40E-05	-0,000191896	5,74E-05
X	1,000054545	1,69E-05	1,000015639	1,000093452

Významnost absolutního členu

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
-6,73E-05	-0,000191896	5,74E-05	Nevýznamný

Absolutní člen je nevýznamný, to znamená, že kalibrační přímka prochází počátkem souřadnic. To je patrné i grafického znázornění a vzhledem k tomu, že jeden kalibrační bod byl [0,0; 0,0000] je to očekávané. Absolutní člen nemůže být vyloučen z modelu. Došlo by k deformaci intervalu spolehlivosti predikce pro $x=0$ a nebyly by spočítány kalibrační meze.

Analýza reziduí

Reziduální součet čtvercu: 6,76E-08
 Půměrné absolutní reziduum : 6,98E-05
 Korelační koeficient : 0,999999999

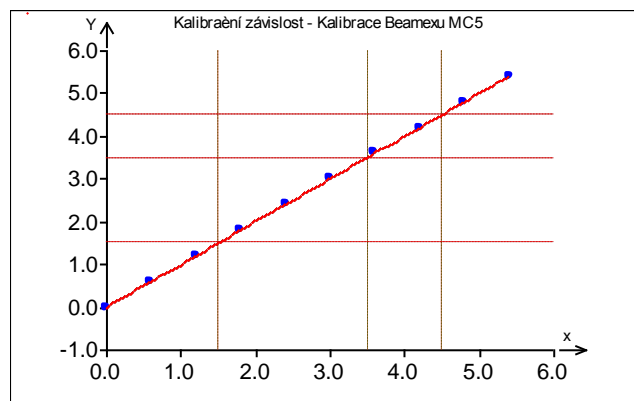
Číslo měření	Naměřené X	Naměřené Y	Vypočítané Y	Reziduum
1	0	0	-6,73E-05	6,73E-05
2	0,6	0,5999	0,599965455	-6,55E-05
3	1,2	1,2	1,199998182	1,82E-06
4	1,8	1,8	1,800030909	-3,09E-05
5	2,4	2,4001	2,400063636	3,64E-05
6	3	3	3,000096364	-9,64E-05
7	3,6	3,6003	3,600129091	0,000170909
8	4,2	4,2001	4,200161818	-6,18E-05
9	4,8	4,8001	4,800194545	-9,45E-05
10	5,4	5,4003	5,400227273	7,27E-05

Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	1,499985455	1,499876518	1,500094386	1,5
2	3,49987637	3,499777816	3,499974929	3,5
3	4,499821828	4,499692572	4,499951093	4,5

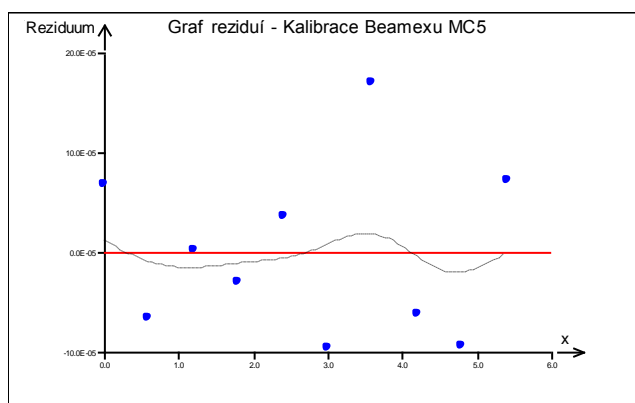
2.2 Grafické znázornění

Kalibrační křivka



Kalibrační křivka znázorňuje i odhady naměřených veličin. Vodorovné přerušované přímky představují naměřenou hodnotu Y a svislé přerušované přímky jsou zpětné odhady.

Graf reziduí



Křivka není výrazně zakřivená to svědčí o linearitě kalibrační závislosti a o nepřítomnosti vybočujících bodů.

2.3 Závěr

Kalibrační závislost je lineární.

Bodový odhad naměřených hodnot

Naměřené hodnoty [bar]	Zpětný odhad [bar]
1,5	1,499985
3,5	3,499876
4,5	4,499822

Intervalový odhad naměřených hodnot

Naměřené hodnoty [bar]	Spodní mez [bar]	Horní mez [bar]
1,5	1,499877	1,500094
3,5	3,499778	3,499975
4,5	4,499693	4,499951

Úloha 2.

Nelineární kalibrace

Zadání

Obsah proteinu v roztocích a suspenzích metodou podle Bradforda pro vzorky obsahující sacharózu se stanovuje fotometricky měřením absorbance při 595 nm. Měří se absorpční maximum Coomasieho modři, které je posunuté zachycením na molekule proteinu. Kvantitativní stanovení obsahu proteinu se vyhodnocuje z kalibrační křivky vytvořené pomocí standardního roztoku albuminu. Před měřením je nutné stanovit kalibrační závislost pomocí kontrolních kalibračních preparátů. V produktu byly naměřeny hodnoty absorbance 1 vzorek 0,35875 $\mu\text{g/l}$, 2 vzorek 0,56745 $\mu\text{g/l}$ a 3 vzorek 0,15342 $\mu\text{g/l}$. Určete koncentrace proteinu ve vzorcích.

Data

Č M	Kontrolní preparát [$\mu\text{g/l}$]	Absorbance
1	20,00	0,11916
2	20,00	0,12096
3	50,00	0,22740
4	50,00	0,23409
5	100,00	0,36520
6	100,00	0,36899
7	150,00	0,49184
8	150,00	0,49018
9	200,00	0,57983
10	200,00	0,59511
11	250,00	0,69423
12	250,00	0,69989

Program QC EXPERT 2.7

- Regrese, lineární regrese
- Kalibrace

Řešení

1 Posouzení dat – regresní diagnostika

Cílem je posoudit data před vlastním provedením kalibrace. Sleduje se výskyt vlivných bodů, které mohou způsobit zkreslení odhadů a růst rozptylů a tím i zkreslenost navržené kalibrace.

Vlivné body se dělí podle výskytu na:

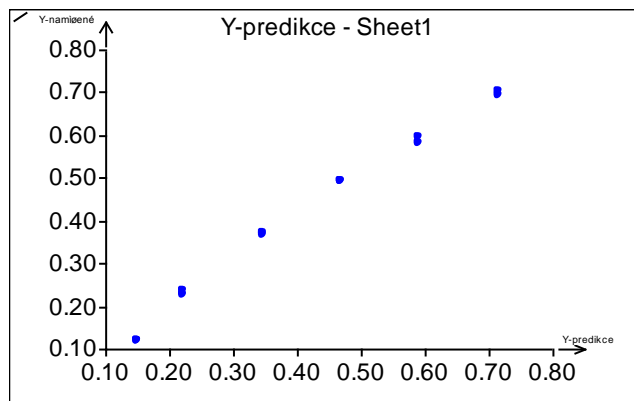
- vybočující (outliers) liší se v hodnotách závisle proměnné y od ostatních bodů
- extrémní (high leverage points)

Pro diagnostiku dat se používají grafické diagnostiky, statistická analýza reziduí (vybočující) a diagonálních prvků projekční matice (extrémní).

1.1 Grafické diagnostiky

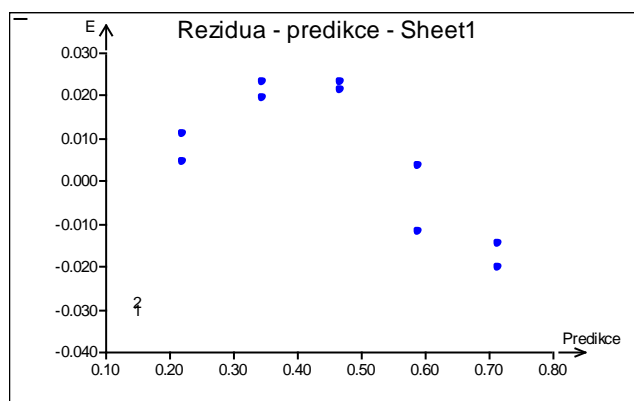
1.1.1 Grafy reziduí

Y-predikce



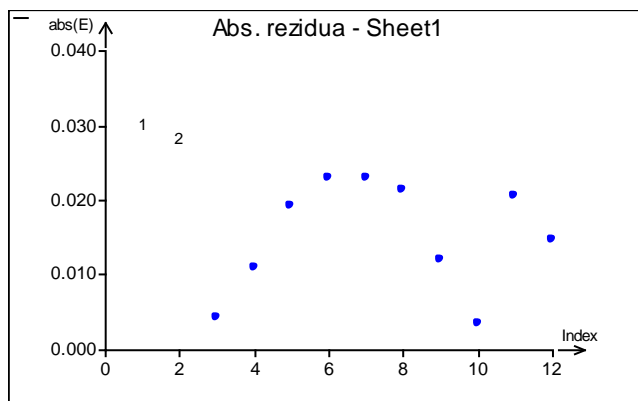
Graf vyjadřuje těsnost proložení. Z grafu je zřejmé, že proložení by lépe odpovídala křivka, nebyly identifikovány vybočující body.

Rezidua vs. Predikce



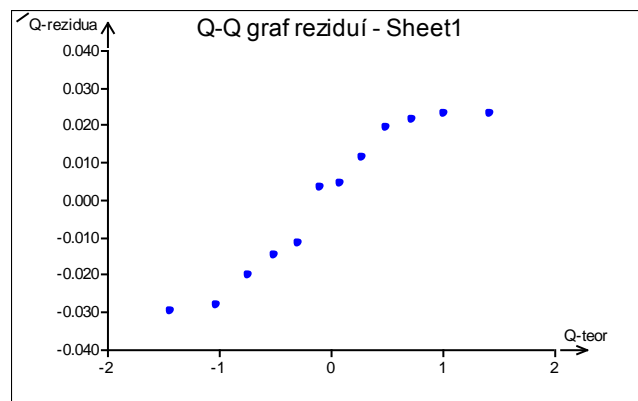
Graf normovaných reziduí. Vodorovná přímka odpovídá průměru reziduí. Průměr reziduí je roven nule. Body č. 1 a 2 jsou podezřelé.

Absolutní rezidua



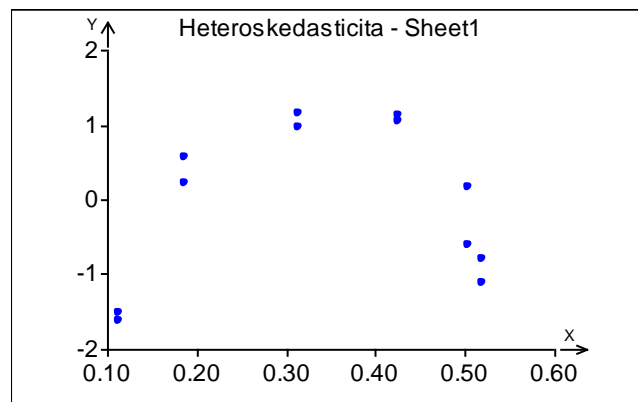
Graf absolutní hodnoty reziduí. Vodorovná přímka odpovídá absolutní chybě. Body č. 1 a 2 jsou podezřelé.

Q-Q graf reziduí



Q-Q graf posuzuje normalitu reziduí. Přímka odpovídá normálnímu rozdělení reziduí.

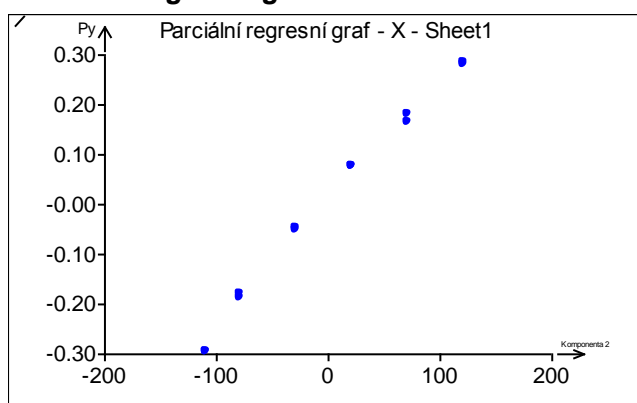
Heteroskedasticita



Body nejsou ve tvaru výseče. Můžeme předpokládat nepřítomnost heteroskedasticity. V datech není trend a nekonstantní rozptyl.

1.1.2 Parciální grafy

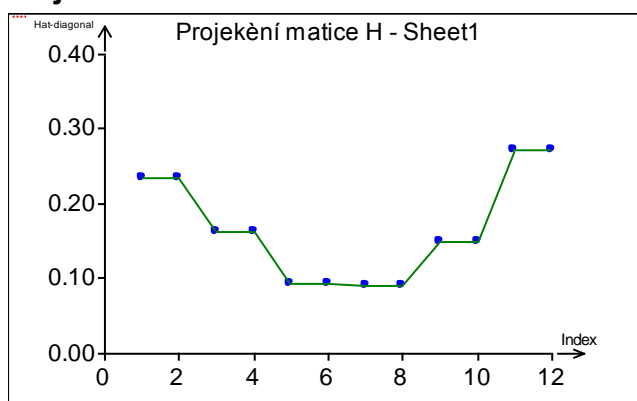
Parciální regresní graf



Graf vyjadřuje závislost závisle proměnné na zvolené jediné nezávisle proměnné s eliminací vlivu ostatních nezávisle proměnných.

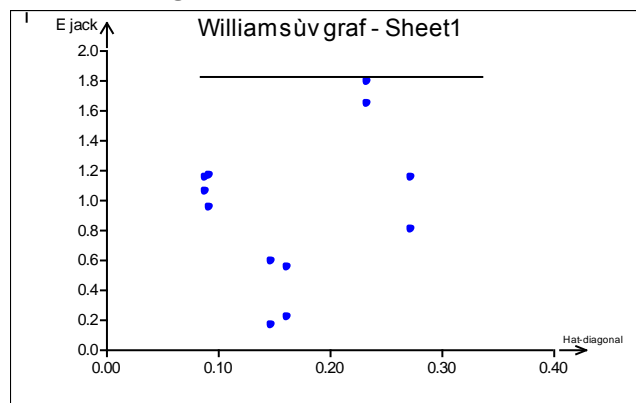
1.1.3 Vlivná data

Projekční matice H



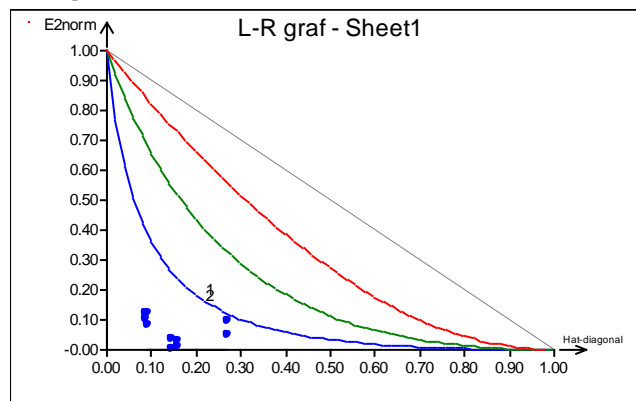
Nad vodorovnou přímkou se nevyskytují žádné body. Graf neindikuje žádné silně vlivné body.

Williamsův graf



Williamsův graf indikuje vlivné i vybočující body. Nad vodorovnou přímkou nejsou žádné silně vybočující.

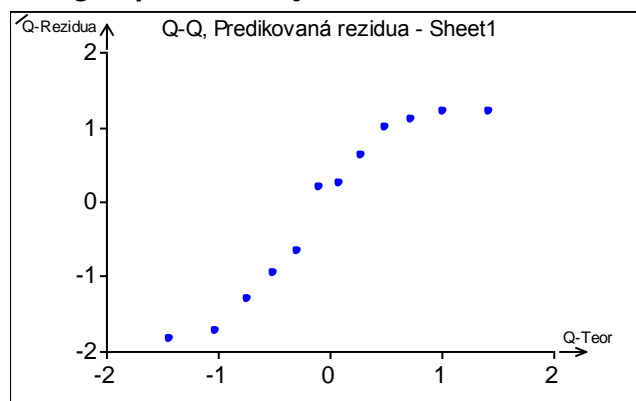
L-R graf



Hyperbolické křivky jsou linie stejného vlivu. Body č. 11 se nachází ve slabě vlivné linii, proto je můžeme považovat za slabě vlivné.

1.1.4 Rankitové grafy

Q-Q graf predikovaných reziduí



Q-Q graf predikovaných reziduí neindikuje odlehlé body. Body se nachází v blízkosti přímkou, to odpovídá normálnímu rozdělení predikovaných reziduí.

1.1.5 Závěr grafické diagnostiky

Z grafické diagnostiky vyplývá:

- Můžeme předpokládat nepřítomnost heteroskedasticity.
- Rozdělení reziduí odpovídá normálnímu
- Body č. 1 a 2 jsou podezřelé.

1.2 Statistická analýza reziduí

Analýza rozptylu

Průměr Y :	0,4155733333		
Zdroj	Součet čtvercu	Průměrný čtverec	Rozptyl
Celková variabilita	0,4767926949	0,03973272457	0,04334479044
Variabilita vysvětlená modelem	0,4722660275	0,03935550229	0,04293327522
Reziduální variabilita	0,004526667399	0,0003772222832	0,0004115152181
Hodnota kritéria F :	1043,297388		
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) :	4,964602744		
Pravděpodobnost:	1,905770811E-011		
Závěr:	Model je významný		

Testování regresního tripletu

Fisher-Snedecoruv test významnosti modelu

Hodnota kritéria F :	1043,297388
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) :	4,964602744
Pravděpodobnost:	1,905770811E-011
Závěr:	Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC :	0,3019979455
Závěr:	Model je korektní.

Cook-Weisberguv test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW :	0,39557437
Kvantil $\chi^2(1-\alpha, 1)$:	3,841458829
Pravděpodobnost:	0,5293837333
Závěr:	Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berruv test normality

Hodnota kritéria JB :	1,173445983
Kvantil $\chi^2(1-\alpha, 2)$:	5,991464547
Pravděpodobnost :	0,5561467996
Závěr:	Rezidua mají normální rozdělení.

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg : 0,8328241466
 Kvantil $N(1-\alpha/2)$: 1,959963999
 Pravděpodobnost : 0,4049439144
 Závěr: V reziduích není trend.

Analýza reziduí						
Index	Standardní	Jackknife	Predikované	Diag(Hii)	Diag(H*ii)	Cookova vzdál.
1	-1,617487078	-1,78576377	-0,03930674548	0,2334754797	0,4340185648	-0,2463349584
2	-1,520855252	-1,645624391	-0,03695848401	0,2334754797	0,4107726548	-0,2316184285
3	0,2243659355	0,2133899967	0,005214121089	0,1618336887	0,166053024	0,02166035933
4	0,5678224233	0,5475836347	0,01319583058	0,1618336887	0,1888580401	0,05481775874
5	0,9513399651	0,9463608902	0,02126012938	0,09360341151	0,1756366289	0,04912235294
6	1,138447289	1,15764738	0,02544152199	0,09360341151	0,2110780498	0,05878362264
7	1,133306532	1,15164757	0,02526726996	0,08933901919	0,2063028309	0,05559066227
8	1,051546618	1,057779452	0,02344441817	0,08933901919	0,1900353834	0,05158019583
9	-0,6063358741	-0,5860952991	-0,01398453771	0,1490405117	0,180325458	-0,05309806765
10	0,1722017744	0,163607704	0,003971663743	0,1490405117	0,1515639003	0,01508006017
11	-1,124336675	-1,141207518	-0,02804989446	0,2727078891	0,3646472819	-0,2107925252
12	-0,8123955023	-0,7974712075	-0,02026760188	0,2727078891	0,3207081831	-0,1523092711

Analýza vlivu						
Index	Atkinsonova vzdál.	Andrews-Pregibon st.	Vliv na Y^{\wedge}	Vliv na parametry LD(b)	Vliv na rozptyl LD(s)	Celkový vliv LD(b,s)
1	2,203771803	0,5659814352	-0,9855567115	0,9200733552	0,3020798969	1,489251269
2	2,030828877	0,5892273452	-0,9082142841	0,8169676182	0,197356515	1,205510409
3	0,2096662004	0,833946976	0,09376557532	0,0116579676	0,03923012086	0,04997587801
4	0,5380279388	0,8111419599	0,240613409	0,07447263689	0,01733568063	0,08809600712
5	0,6800306601	0,8243633711	0,3041189566	0,1116360487	0,0003710971278	0,1134124013
6	0,8318557116	0,7889219502	0,3720171837	0,1595475748	0,0163798971	0,1855315232
7	0,8065788382	0,7936971691	0,3607130223	0,1502583547	0,0155358447	0,1745639257
8	0,7408364709	0,8099646166	0,3313121418	0,1294725699	0,005516253192	0,1396768186
9	0,5484675835	0,819674542	-0,24528216	0,07702092618	0,01449333459	0,08802630329
10	0,1531039784	0,8484360997	0,06847018069	0,00623073362	0,04121532827	0,0469453085
11	1,562586395	0,6353527181	-0,6988098801	0,5557348829	0,01412853259	0,6109827252
12	1,091929066	0,6792918169	-0,4883255237	0,2933498933	0,002092685072	0,2935460171

1.2.3 Závěr Statistické analýzy reziduí

Z Statistické analýza reziduí vyplývá:

- Rezidua vykazují homoskedasticitu.
- Rezidua mají normální rozdělení.
- V reziduích není trend.
- Bod č. 1 a 2 mohou být vlivné.

1.3 Závěr

Body č. 1 a 2 Jsou podezřelé na vlivný bod, což by mohlo způsobit zkreslení odhadů a růst rozptylů a tím i zkreslenost navržené kalibrace. Vzhledem k tomu, že naměřené hodnoty jsou v blízkosti dotyčných bodů a po eliminaci těchto bodů nedošlo k dramatickému zlepšení charakteristik, nebudou tyto body vyjmuty.

Statistické charakteristiky regrese

	Před vyjmutím	Po vyjmutí
Vícenásobný korelační koeficient R :	0,995242	0,997528
Koeficient determinace R^2 :	0,990506	0,995062
Predikovaný korelační koeficient R_p :	0,971644	0,984391
Střední kvadratická chyba predikce MEP :	0,000567	0,000209
Akaikeho informační kritérium :	-90,5921	-85,3312

2 Kalibrace

2.1 Statistická analýza

Název úlohy : Protein
Data: Všechna

Ocet dat: 12
Hladina významnosti : 0,05
Volba kalibračního modelu : Manuální
Použitý kalibrační model : Kvadratický
Vhodnost použitého modelu : Vyhovuje
Použita vážená regrese : Ne

Parametry kalibračního modelu

Parametr	Odhad	Sm. odchylka	Spodní mez	Horní mez
Abs.	0,06203392308	0,007854544228	0,04426570959	0,07980213656
X	0,003359498553	0,0001444400939	0,00303275236	0,003686244746
X ²	-3,376195971E-006	5,257856714E-007	-4,565605793E-006	-2,186786148E-006

Významnost absolutního členu

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
0,06203392308	0,04426570959	0,07980213656	Významný

Validace směrnice

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Směrnice=1
0,003359498553	0,00303275236	0,003686244746	Ne

Citlivost metody

Citlivost v nule : 0,003359498553
Citlivost v počátku : 0,003224450714
Citlivost ve středu : 0,00258297348
Citlivost na konci : 0,001671400568

Zvolený faktor K : 1,959963999

Kalibrační meze

Y_c..kritická Kritická úroveň Y. Nejnižší hodnota rozeznatelná od šumu. Hodnoty < Y_c jsou šum.
Y_d..detekce Mez detekce Y. Hodnota, nad níž můžeme bezpečně naměřit hodnotu.
Y_q..kvantifikace Mez kvantifikace Y. Hodnota nad níž můžeme stanovit skutečnou hodnotu Y s relativní chybou menší než α.
X_c..kritická Kritická úroveň X. Hodnota odpovídající Y_c podle kalibračního modelu.

X_d ..detekce Mez detekce X. Minimální detekovaná hodnota X danou metodou.
 X_q ..kvantifikace Mez kvantifikace X. Minimální hodnota X, kterou lze stanovit s relativní chybou menší než α

Metoda	Y_c	Y_d	Y_q	X_c	X_d	X_q	$Y_q(10\sigma)$	$X_q(10\sigma)$
Metoda podle ISO 11843-2	0,2305589423	0,2512939402	0,3990839616	50,26477137	59,94733834	100,5295427	---	---
Přímá metoda analytu	0,08742216213	0,1077161499	0,1262025126	7,615434447	13,78901206	19,48208308	---	---
Přímá metoda signálu, IUPAC	0,08742216213	0,1098772119	0,1299516054	7,615434447	14,45107079	20,64494519	---	---
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	0,08478254112	0,1075311797	0,1260333291	6,818150839	13,73238705	19,42967389	---	---
Metoda K*Sigma z regrese	0,08742216213	0,1128104012	0,1381986402	7,615434447	15,35113121	23,21297442	0,1466613866	25,8627087
Metoda K*Sigma, ACS	0,08063961204	0,099245301	0,11785099	5,569406412	11,20258968	16,90179229	0,1569626512	16,90179229

Analýza reziduí

Reziduální součet čtvercu: 0,0008110317087
 Půměrné absolutní reziduum : 0,006409736874
 Korelační koeficient : 0,9991491303

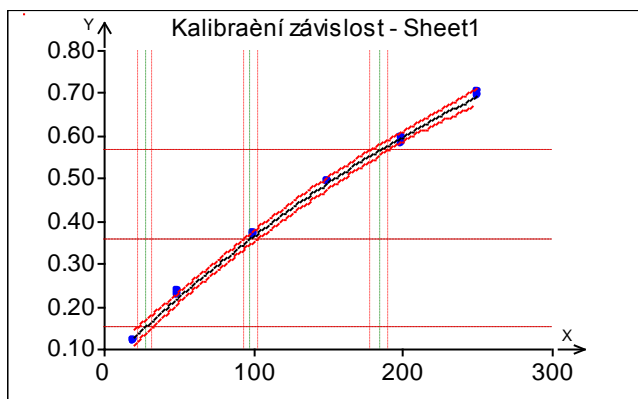
Číslo měření	Naměřené X	Naměřené Y	Vypočítané Y	Reziduum
1	20	0,11916	0,1278734158	-0,008713415751
2	20	0,12096	0,1278734158	-0,006913415751
3	50	0,2274	0,2215683608	0,005831639194
4	50	0,23409	0,2215683608	0,01252163919
5	100	0,3652	0,3642218187	0,0009781813187
6	100	0,36899	0,3642218187	0,004768181319
7	150	0,49184	0,4899942967	0,001845703297
8	150	0,49018	0,4899942967	0,0001857032967
9	200	0,57983	0,5988857949	-0,01905579487
10	200	0,59511	0,5988857949	-0,003775794872
11	250	0,69423	0,6908963132	0,003333686813
12	250	0,69989	0,6908963132	0,008993686813

Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	97,96671635	93,25928368	102,9285049	0,35875
2	184,743816	178,6751476	190,717874	0,56745
3	27,98960881	22,46643036	32,75675029	0,15342

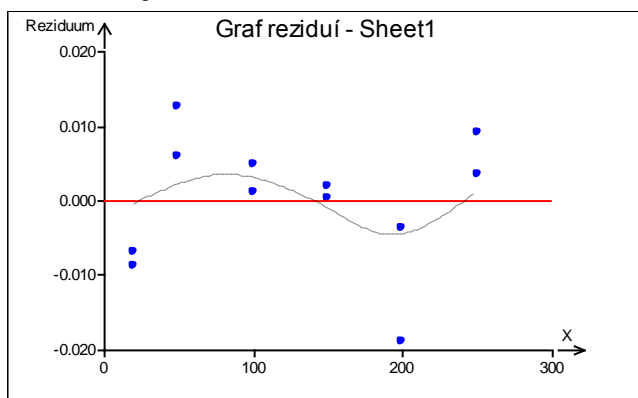
2.2 Grafické znázornění

Kalibrační křivka



Kalibrační křivka znázorňuje i odhady naměřených veličin. Vodorovné přerušované přímky představují naměřenou hodnotu Y a svislé přerušované přímky jsou zpětné odhady.

Graf reziduí



Křivka je výrazně zakřivená to svědčí o nelinearitě kalibrační závislosti.

2.3 Závěr

Kalibrační závislost vystihuje kalibrační nelineární křivka. $Y = a.x^2 + b.x + c$

Bodový odhad naměřených hodnot

Naměřené hodnoty [nm]	Zpětný odhad [μg/l]
0,35875	97,967
0,56745	184,744
0,15342	27,990

Intervalový odhad naměřených hodnot

Naměřené hodnot [nm]	Spodní mez [μg/l]	Horní mez [μg/l]
0,35875	93,259	102,928
0,56745	178,675	190,718
0,15342	22,466	32,757

Úloha 3.

Rozlišení mezi lineární a nelineární kalibrací

Zadání

Obsah proteinu v roztocích a suspenzích metodou podle Bradforda pro vzorky obsahující sacharózu se stanovuje fotometricky měřením absorbance při 595 nm. Měří se absorpční maximum Coomasieho modři, které je posunuté zachycením na molekule proteinu. Kvantitativní stanovení obsahu proteinu se vyhodnocuje z kalibrační křivky vytvořené pomocí standardního roztoku albuminu. Před měřením je nutné stanovit kalibrační závislost pomocí kontrolních kalibračních preparátů. V produktu byly naměřeny hodnoty absorbance 1 vzorek 0,35875 $\mu\text{g/l}$, 2 vzorek 0,56745 $\mu\text{g/l}$ a 3 vzorek 0,15342 $\mu\text{g/l}$. Určete koncentrace proteinu ve vzorcích.

Data

Č M	Kontrolní preparát [$\mu\text{g/l}$]	Absorbance
1	20,00	0,11916
2	20,00	0,12096
3	50,00	0,22740
4	50,00	0,23409
5	100,00	0,36520
6	100,00	0,36899
7	150,00	0,49184
8	150,00	0,49018
9	200,00	0,57983
10	200,00	0,59511
11	250,00	0,69423
12	250,00	0,69989

Program QC EXPERT 2.7

- Kalibrace

1 Statistická analýza

1.1 Nelineární kalibrace

Název úlohy : Protein
Data: Všechna

Ocet dat: 12
Hladina významnosti : 0,05
Volba kalibračního modelu : Manuální
Použitý kalibrační model : Kvadratický
Vhodnost použitého modelu : **Vyhovuje**
Použita vážená regrese : Ne

Parametry kalibračního modelu

Parametr	Odhad	Sm. odchylka	Spodní mez	Horní mez
Abs.	0,06203392308	0,007854544228	0,04426570959	0,07980213656
X	0,003359498553	0,0001444400939	0,00303275236	0,003686244746
X ²	-3,376195971E-006	5,257856714E-007	-4,565605793E-006	-2,186786148E-006

Významnost absolutního členu

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
0,06203392308	0,04426570959	0,07980213656	Významný

Validace směrnice

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Směrnice=1
0,003359498553	0,00303275236	0,003686244746	Ne

Citlivost metody

Citlivost v nule :	0,003359498553
Citlivost v počátku :	0,003224450714
Citlivost ve středu :	0,00258297348
Citlivost na konci :	0,001671400568
Zvolený faktor K :	1,959963999

Kalibrační meze

Y_c..kritická	Kritická úroveň Y. Nejnižší hodnota rozeznatelná od šumu. Hodnoty < Y _c jsou šum.
Y_d..detekce	Mez detekce Y. Hodnota, nad níž můžeme bezpečně naměřit hodnotu.
Y_q..kvantifikace	Mez kvantifikace Y. Hodnota nad níž můžeme stanovit skutečnou hodnotu Y s relativní chybou menší než α
X_c..kritická	Kritická úroveň X. Hodnota odpovídající Y _c podle kalibračního modelu.
X_d..detekce	Mez detekce X. Minimální detekovaná hodnota X danou metodou.
X_q..kvantifikace	Mez kvantifikace X. Minimální hodnota X, kterou lze stanovit s relativní chybou menší než α

Metoda	Y _c	Y _d	Y _q	X _c	X _d	X _q	Y _q (10sigma)	X _q (10sigma)
Metoda podle ISO 11843-2	0,2305589423	0,2512939402	0,3990839616	50,26477137	59,94733834	100,5295427	---	---
Přímá metoda analytu	0,08742216213	0,1077161499	0,1262025126	7,615434447	13,78901206	19,48208308	---	---
Přímá metoda signálu, IUPAC	0,08742216213	0,1098772119	0,1299516054	7,615434447	14,45107079	20,64494519	---	---
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	0,08478254112	0,1075311797	0,1260333291	6,818150839	13,73238705	19,42967389	---	---
Metoda K*Sigma z regrese	0,08742216213	0,1128104012	0,1381986402	7,615434447	15,35113121	23,21297442	0,1466613866	25,8627087
Metoda K*Sigma, ACS	0,08063961204	0,099245301	0,11785099	5,569406412	11,20258968	16,90179229	0,1569626512	16,90179229

Analýza reziduí

Reziduální součet čtvercu: 0,0008110317087

Přůmerné absolutní
reziduum : 0,006409736874

Korelační koeficient : 0,9991491303

Číslo měření	Naměřené X	Naměřené Y	Vypočítané Y	Reziduum
1	20	0,11916	0,1278734158	-0,008713415751
2	20	0,12096	0,1278734158	-0,006913415751
3	50	0,2274	0,2215683608	0,005831639194
4	50	0,23409	0,2215683608	0,01252163919
5	100	0,3652	0,3642218187	0,0009781813187
6	100	0,36899	0,3642218187	0,004768181319
7	150	0,49184	0,4899942967	0,001845703297
8	150	0,49018	0,4899942967	0,0001857032967
9	200	0,57983	0,5988857949	-0,01905579487
10	200	0,59511	0,5988857949	-0,003775794872
11	250	0,69423	0,6908963132	0,003333686813
12	250	0,69989	0,6908963132	0,008993686813

Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	97,96671635	93,25928368	102,9285049	0,35875
2	184,743816	178,6751476	190,717874	0,56745
3	27,98960881	22,46643036	32,75675029	0,15342

1.2 Lineární kalibrace

Název úlohy : Protein
Data: Všechna

Očet dat: 12
Hladina významnosti : 0,05
Volba kalibračního modelu : Manuální
Použitý kalibrační model : Lineární
Vhodnost použitého modelu : **Nevyhovuje**
Použita vážená regrese : Ne

Parametry kalibračního modelu

Parametr	Odhad	Sm. odchylka	Spodní mez	Horní mez
Abs.	0,1001295075	0,01153679045	0,07442393643	0,1258350785
X	0,002458003838	7,609892058E-005	0,002288444876	0,002627562799

Významnost absolutního členu

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
0,1001295075	0,07442393643	0,1258350785	Významný

Validace směrnice

Hodnota Spodní mez Horní mez Směrnice=1
0,002458003838 0,0022884448760,002627562799Ne

Citlivost metody

0,002458003838
Vypočítaná sm.odch. slepého signálu : 0,02127596625
Zvolený faktor K : 1,959963999

Kalibrační meze

Y_c..kritická Kritická úroveň Y. Nejnižší hodnota rozeznatelná od šumu.
Hodnoty < Y_c jsou šum.
Mez detekce Y. Hodnota, nad níž můžeme bezpečně naměřit
hodnotu.
Y_d..detekce
Y_q..kvantifikace Mez kvantifikace Y. Hodnota nad níž můžeme stanovit
skutečnou hodnotu Y s relativní chybou menší než α
X_c..kritická Kritická úroveň X. Hodnota odpovídající Y_c podle
kalibračního modelu.
Mez detekce X. Minimální detekovaná hodnota X danou
metodou.
X_d..detekce
X_q..kvantifikace Mez kvantifikace X. Minimální hodnota X, kterou lze stanovit
s relativní chybou menší než α

Metoda	Y _c	Y _d	Y _q	X _c	X _d	X _q	Y _q (10sigma)	X _q (10sigma)
Metoda podle ISO 11843-2	0,3838768855	0,4188635739	0,6676242636	115,4381347	129,6719157	230,8762693	---	---
Přímá metoda analytu	0,1347908924	0,1645512437	0,1923305559	14,10143645	26,20896488	37,51053884	---	---
Přímá metoda signálu, IUPAC	0,1347908924	0,1667691708	0,1963679427	14,10143645	27,11129343	39,15308584	---	---
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	0,1322974633	0,16446544	0,1922503477	13,08702426	26,17405699	37,47790739	---	---
Metoda K*Sigma z regrese	0,1347908924	0,1694522773	0,2041136622	14,10143645	28,2028729	42,30430935	0,2156674572	47,00478817
Metoda K*Sigma, ACS	0,1418296353	0,1835297632	0,2252298911	16,96503774	33,93007549	50,89511323	0,31288917	50,89511323

Analýza reziduí

Reziduální součet čtvercu: 0,004526667399
Půměrné absolutní reziduuum : 0,01758339623
Korelační koeficient : 0,9952416818

Číslo měření	Namerené X	Namerené Y	Vypocítané Y	Reziduuum
1	20	0,11916	0,1492895842	-0,03012958422
2	20	0,12096	0,1492895842	-0,02832958422
3	50	0,2274	0,2230296994	0,00437030064
4	50	0,23409	0,2230296994	0,01106030064
5	100	0,3652	0,3459298913	0,01927010874
6	100	0,36899	0,3459298913	0,02306010874
7	150	0,49184	0,4688300832	0,02300991684
8	150	0,49018	0,4688300832	0,02134991684
9	200	0,57983	0,5917302751	-0,01190027505
10	200	0,59511	0,5917302751	0,003379724947
11	250	0,69423	0,714630467	-0,02040046695
12	250	0,69989	0,6908963132	0,008993686813

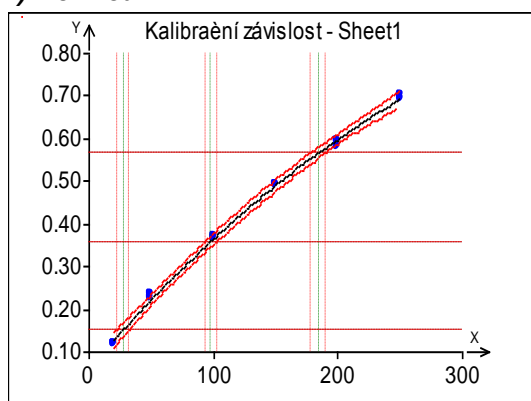
Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	105,2156586	97,16823506	112,8595688	0,35875
2	190,121954	181,1501454	200,172279	0,56745
3	21,68039436	8,220039951	33,27912517	0,15342

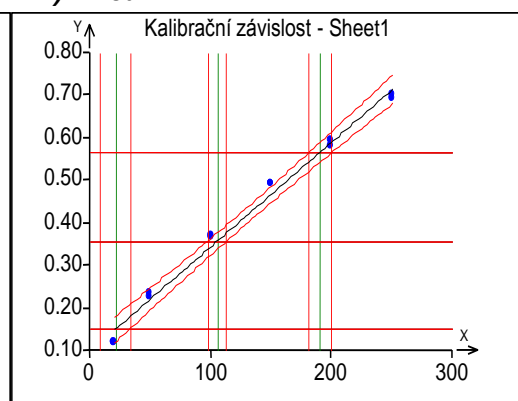
2 Grafické znázornění

Kalibrační křivka

A) nelineární



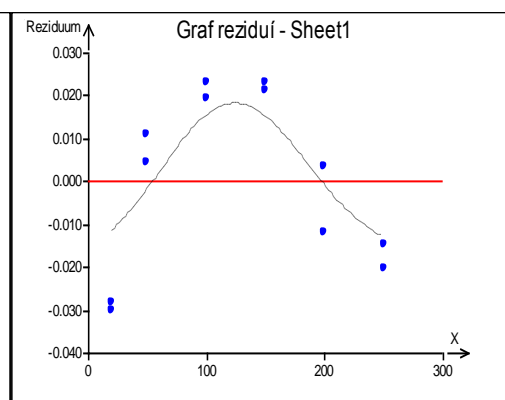
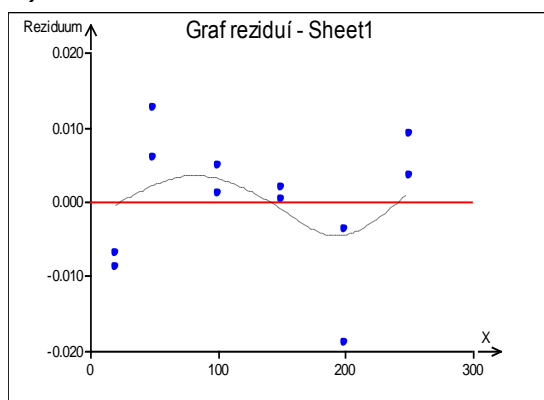
B) lineární



Kalibrační křivka znázorňuje i odhady naměřených veličin. Vodorovné přerušované přímky představují naměřenou hodnotu Y a svislé přerušované přímky jsou zpětné odhady.

Graf reziduí

A) nelineární



B) lineární

Křivka je výrazně zakřivená to svědčí o nelinearitě kalibrační závislosti a o nepřítomnosti vybočujících bodů.

2.4 Závěr

Kalibrační závislost je nelineární. Lineární model kalibrační závislosti byl zamítnut. Lineární model poskytuje výsledky se širším intervalem spolehlivosti.

Bodový odhad naměřených hodnot

Naměřené hodnoty [nm]	Zpětný odhad nelineární [$\mu\text{g/l}$]	Zpětný odhad lineární [$\mu\text{g/l}$]
0,35875	97,967	105,216
0,56745	184,744	190,122
0,15342	27,990	21,680

Intervalový odhad naměřených hodnot

A) nelineární

Naměřené hodnot [nm]	Spodní mez [$\mu\text{g/l}$]	Horní mez [$\mu\text{g/l}$]
0,35875	93,259	102,928
0,56745	178,675	190,718
0,15342	22,466	32,757

B) lineární

Naměřené hodnot [nm]	Spodní mez [$\mu\text{g/l}$]	Horní mez [$\mu\text{g/l}$]
0,35875	97,168	112,860
0,56745	181,150	200,172
0,15342	8,220	33,279