

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra analytické chemie

Kalibrace a limity její přesnosti

Semestrální práce

Licenční studium GALILEO – Interaktivní statistická analýza dat

Brno, 2015

Mgr. Sylvie Pavloková
VFU Brno, Ústav technologie léků

Obsah

Úloha 1. Lineární kalibrace	3
Úloha 2. Nelineární kalibrace.....	7
Úloha 3. Rozlišení mezi lineární a nelineární kalibrací	13

Úloha 1. Lineární kalibrace

Zadání: Cílem úlohy je stanovení lineární kalibrační závislosti pro zjišťování glukózy ve vzorku. V laboratorním cvičení je glukóza v roztoku stanovována polarimetricky, stupeň otočení byl rovněž změřen u tří neznámých vzorků. Z teorie je předpokládána přímková odezva stupně otočení na koncentraci glukózy v roztoku. Úkolem je dále zjištění bodového a intervalového odhadu koncentrace pro neznámé vzorky, spolu s vyčíslením limitů přesnosti.

Data:

Měření stupně otočení α kalibračních roztoků o definovaných koncentracích c a stanovení stupně otočení pro tři neznámé vzorky:

kalibrace		vzorky
c (mol/l)	α (°)	α (°)
0,25	4,005	12,495
0,50	8,480	21,755
0,75	12,635	36,578
1,00	18,495	
1,25	23,390	
1,50	25,905	
1,75	32,410	
2,00	37,780	
2,25	41,670	

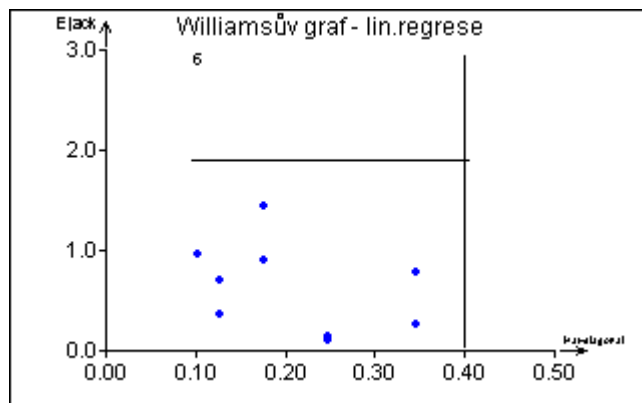
Užitý program: QC.Expert 3.2

Řešení:

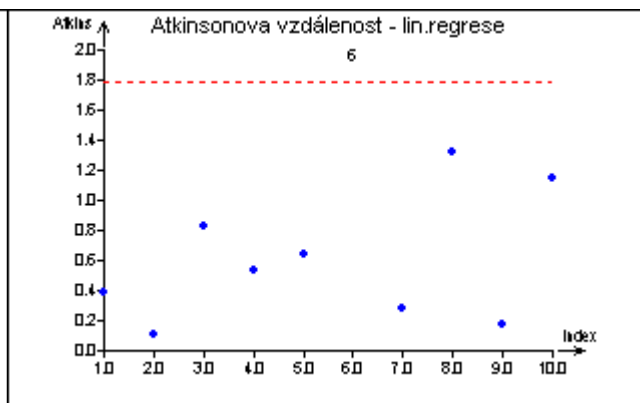
Pomocí lineární regrese (přímková závislost) byla testována možnost vyloučení odlehlých bodů, aby mohlo být provedeno následné kalibrační stanovení.

Návrh modelu: Z teorie je známo, že závislost stupně otočení při polarimetrickém stanovení glukózy na její koncentraci v roztoku je přímková. Navržená rovnice je tedy: $y = \beta_0 + \beta_1 x$.

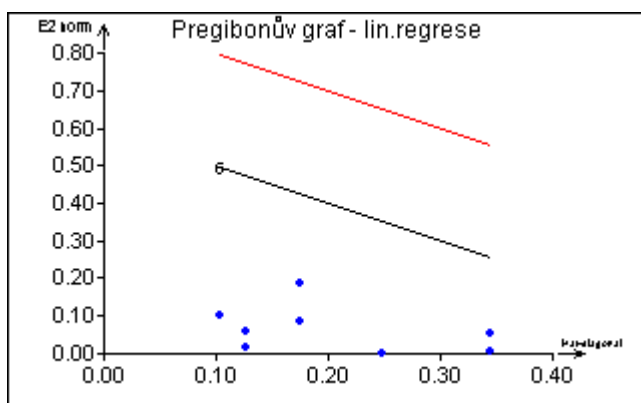
Kritika dat: Vybrané grafické diagnostiky (Obr. 1.1 – 1.6) se shodly na odlehlosti bodu 6.



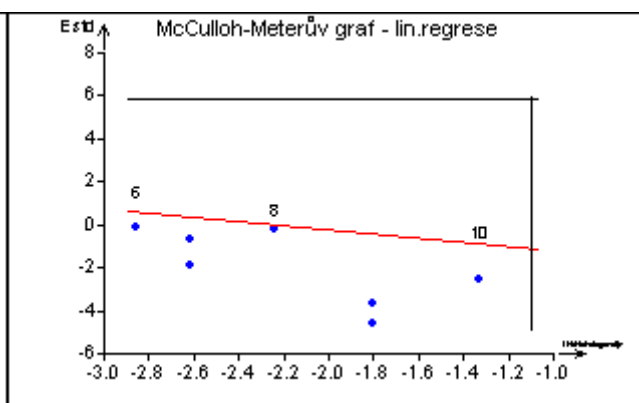
Obr. 1.1 – Williamsův graf



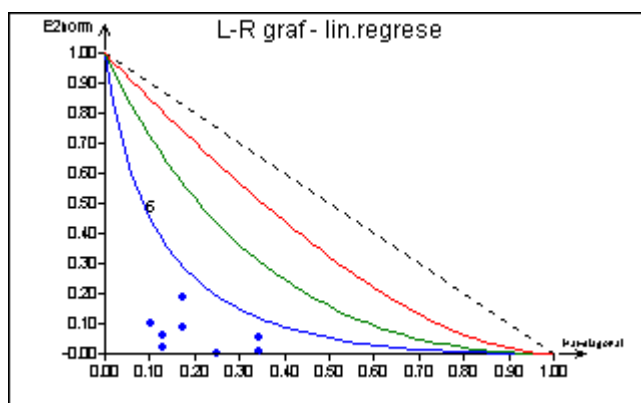
Obr. 1.2 – Atkinsonova vzdálenost



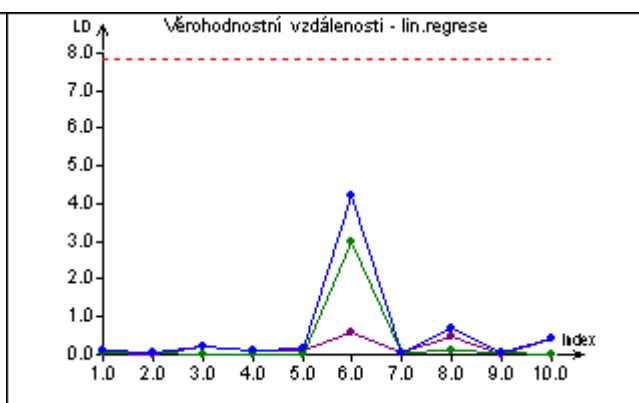
Obr. 1.3 – Pregibonův graf



Obr. 1.4 – McCulloh-Meterův graf



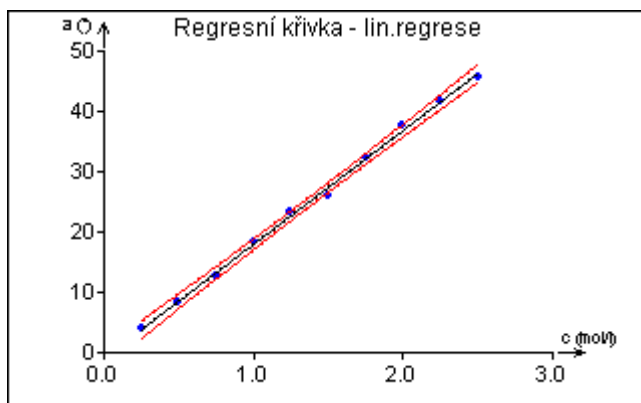
Obr. 1.5 – L-R graf



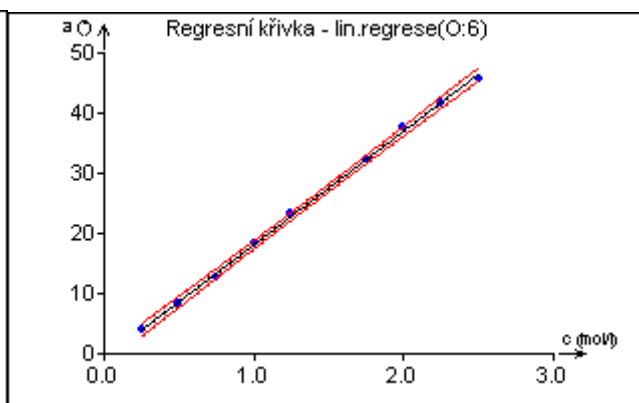
Obr. 1.6 – Graf věrohodnostní vzdálenosti

Bod 6 byl tedy z datového souboru vyloučen a dále bylo posuzováno zlepšení charakteristik modelu po vyloučení odlehlého bodu z hlediska regresní přímky, kvality proložení a testování předpokladu MNČ.

Kritika modelu: Navržený lineární model pro polarimetrické stanovení glukózy lze posoudit jako vhodný, jelikož je již z regresního grafu vidět (Obr. 1.7 a 1.8), že přímková závislost je dodržena. Také je již na první pohled zřejmé, že po vyloučení odlehlého bodu 6 došlo ke zúžení pásu spolehlivosti regrese.



Obr. 1.7 – Regresní přímka



Obr. 1.8 Regresní přímka (po vyloučení bodu 6)

Základní statistické charakteristiky: S vyloučením odlehlého bodu došlo ke zlepšení všech sledovaných parametrů regrese. Hodnota koeficientu determinace, charakterizující podíl experimentálních bodů vyhovujících navrženému modelu, vzrostla. A především se snížila hodnota střední kvadratické chyby predikce MEP a Akaikova informačního kritéria AIC.

parametr	původní model	po vyloučení bodu 6
Vícenásobný korelační koeficient R	0,9987	0,9994
Koeficient determinace R ²	0,9975	0,9988
Predikovaný korelační koeficient R _p	0,9930	0,9961
Střední kvadratická chyba predikce MEP	0,641	0,402
Akaikova informační kritérium	-3,643	-9,022

Kritika metody:

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F: 6073,487726
 Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m): 5,591447851
 Pravděpodobnost: 1,507249927E-011
 Závěr: Model je významný

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW: 0,2240865253
 Kvantil Chi²(1-alfa,1): 3,841458829
 Pravděpodobnost: 0,6359436776
 Závěr: Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB: 0,4389883058
 Kvantil Chi²(1-alfa,2): 5,991464547
 Pravděpodobnost: 0,8029248525
 Závěr: Rezidua mají normální rozdělení.

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA: 0,04605224301
 Kvantil Chi²(1-alfa,1): 3,841458829
 Pravděpodobnost: 0,8300808598
 Závěr: Autokorelace je nevýznamná

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria S_g: 0,6827364296
 Kvantil N(1-alfa/2): 1,959963999
 Pravděpodobnost: 0,4947734057
 Závěr: V reziduích není trend.

Všechny předpoklady pro použití MNČ u výsledného modelu (po vyloučení bodu 6) byly splněny.

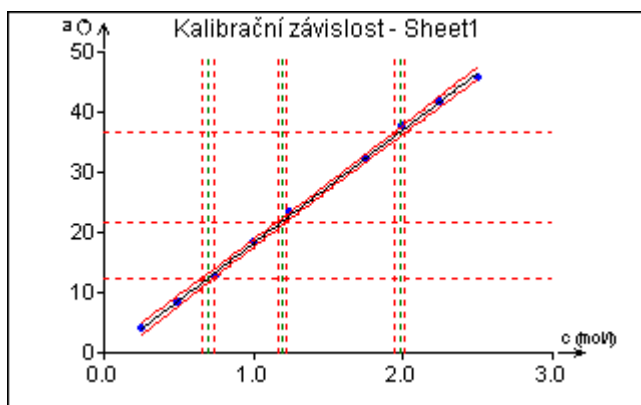
Odhadování parametrů: Pomocí klasické MNČ byly stanoveny odhady regresních parametrů. Analýza dat probíhala na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Užitím Studentova t-testu bylo zjištěno, že úsek lze považovat za statisticky nevýznamný, jelikož příslušný interval spolehlivosti zahrnuje i hodnotu 0.

Proměnná	Odhad	Směr, Odch,	Závěr	Pravděpodobnost	Spodní mez	Horní mez
Abs	-0,7768	0,3777	Nevýznamný	0,0788	-1,6701	0,1164
c (mol/l)	18,9095	0,2426	Významný	1,5073E-011	18,3358	19,4833

Kalibrace:

Zpětné odhady pro neznámé vzorky:

	inverzní odhad (mol/l)	IS dolní (mol/l)	IS horní (mol/l)
vzorek 1	0,702	0,660	0,741
vzorek 2	1,192	1,160	1,222
vzorek 3	1,975	1,937	2,016



Obr. 1.9 Regresní přímka s inverzními odhady

Kalibrační meze:

Metoda	y_c	y_d	y_q	x_c	x_d	x_q
Metoda podle ISO 11843-2	0,398	0,738	1,573	0,062	0,080	0,124
Přímá metoda analytu	0,405	1,507	2,573	0,063	0,121	0,177
Přímá metoda signálu, IUPAC	0,405	1,545	2,646	0,063	0,123	0,181
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	0,365	1,507	2,573	0,060	0,121	0,177
Metoda K*Sigma z regrese	0,405	1,586	2,768	0,063	0,125	0,188
Metoda K*Sigma, ACS	0,873	2,523	4,174	0,087	0,175	0,262

Pomocí několika metod byly stanoveny kalibrační meze pro koncentraci glukózy (x) ve vzorku a také pro odezvu (y). Jelikož hodnoty odezvy pro všechny tři neznámé vzorky leží nad těmito limity, je možné ve vzorcích kvantitativně stanovit glukózu.

Závěr: Pro polarimetrické stanovení glukózy ve vzorku byla nalezena vhodná kalibrační přímková závislost. Z datového souboru byl kvůli odlehlosti vyloučen bod 6. Byly vyčísleny bodové a intervalové odhady pro tři neznámé vzorky, hodnoty byly následující (v závorce jsou uvedeny příslušné intervaly spolehlivosti): **vzorek 1 (0,66 mol/l; 0,74 mol/l)**, **vzorek 2 (1,16 mol/l; 1,22 mol/l)** a **vzorek 3 (1,94 mol/l; 2,02 mol/l)**. Byla stanovena kritická úroveň metody ($x_c = 0,06 \text{ mol/l}$), limit detekce ($x_d = 0,12 \text{ mol/l}$) a limit stanovitelnosti ($x_q = 0,18 \text{ mol/l}$) – brány přibližné hodnoty, na kterých se shodlo nejvíce metod pro výpočet kritických mezí.

Úloha 2. Nelineární kalibrace

Zadání: Záměrem této úlohy je zjištění nelineární (křivkové) kalibrační závislosti pro stanovení olova metodou elektrotermické atomové absorpce. Dále je nutné vyčíslit bodový a intervalový odhad koncentrace olova pro tři neznámé vzorky, spolu s určením limitů přesnosti. (M. Meloun, J. Militký; Kompendium statistického zpracování dat, s. 477, úloha K6.15)

Data:

Stanovení absorpce A pro 10 kalibračních měření olova o definovaných koncentracích c ve vzorku a stanovení této odezvy také pro tři neznámé vzorky:

kalibrace		vzorky
c (ng/ml)	A	A
10	0,050	0,282
25	0,170	0,444
50	0,320	0,995
70	0,437	
100	0,600	
136	0,927	
200	1,070	
250	1,250	
280	1,344	
300	1,400	

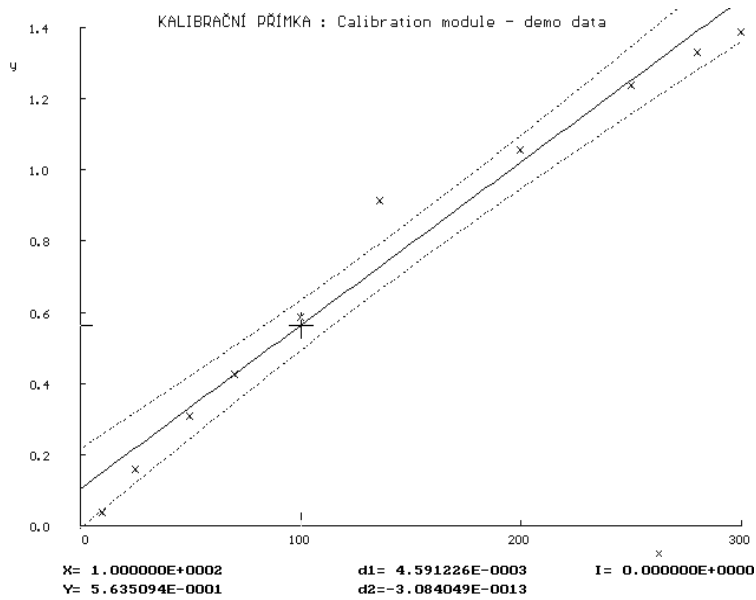
Užitý program: Adstat, QC.Expert 3.2

Řešení:

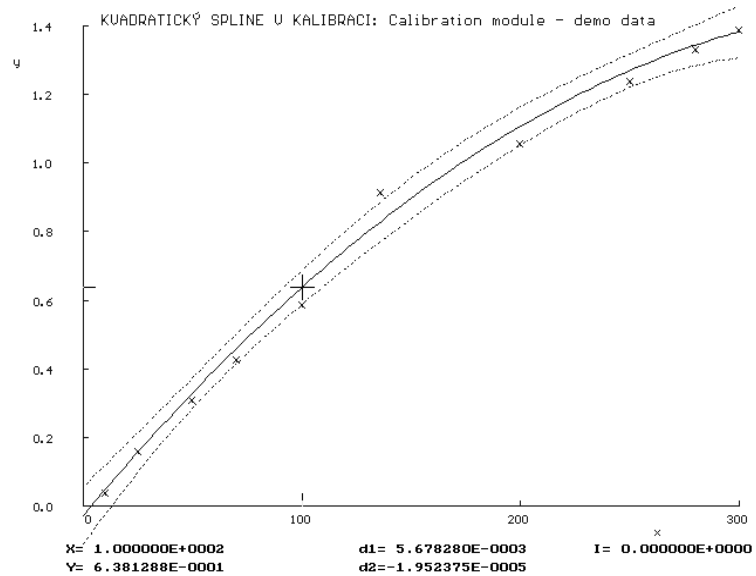
Nejprve je nutné stanovit nejlepší typ proložení experimentálních bodů, aby mohly být zjištěny bodové a intervalové odhady pro koncentraci neznámých vzorků a také limity přesnosti metody. Proto byly zkonstruovány modely o různých typech proložení – lineární a poté kvadratický a kubický spline o různém počtu uzlů.

Vhodný model byl vybrán na základě hodnot odhadu směrodatné odchylky reziduí $s(e)$ a limitu detekce x_d . Také bylo přihlíženo i na grafický výstup, především byl sledován tvar a šířka pásu spolehlivosti proložení. V úvahu byly brány pouze modely s nižším počtem uzlů, kde nedocházelo k výraznému rozšíření pásu spolehlivosti v grafu.

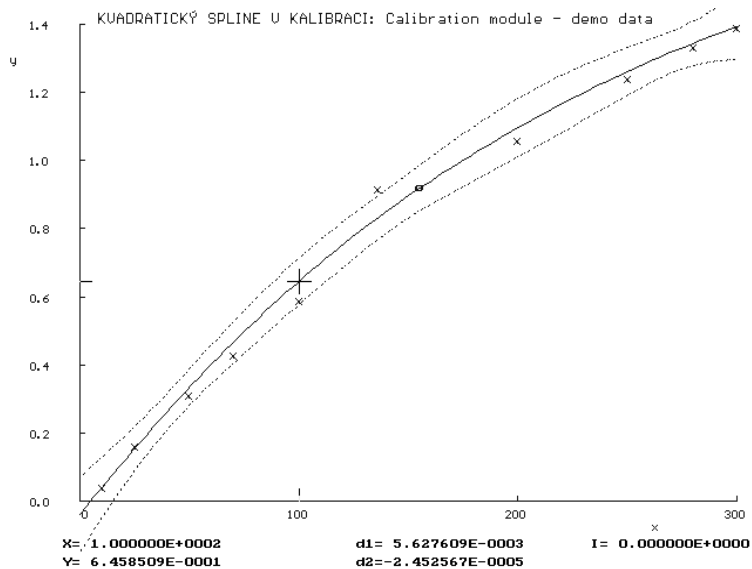
model	$s(e) \cdot 10^{-2}$	x_d
lineární	8,9762	44,04
kvadratický spline (0 uzlů)	4,4376	19,64
kvadratický spline (1 uzel)	4,7080	23,00
kvadratický spline (2 uzly)	3,9309	29,35
kubický spline (0 uzlů)	4,7540	24,25
kubický spline (1 uzel)	4,2724	35,73



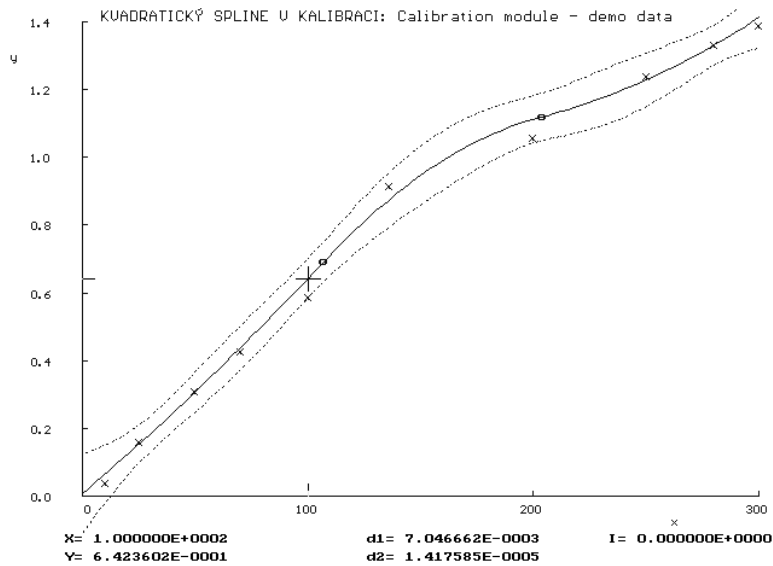
Obr. 2.1 – Regresní křivka – lineární model



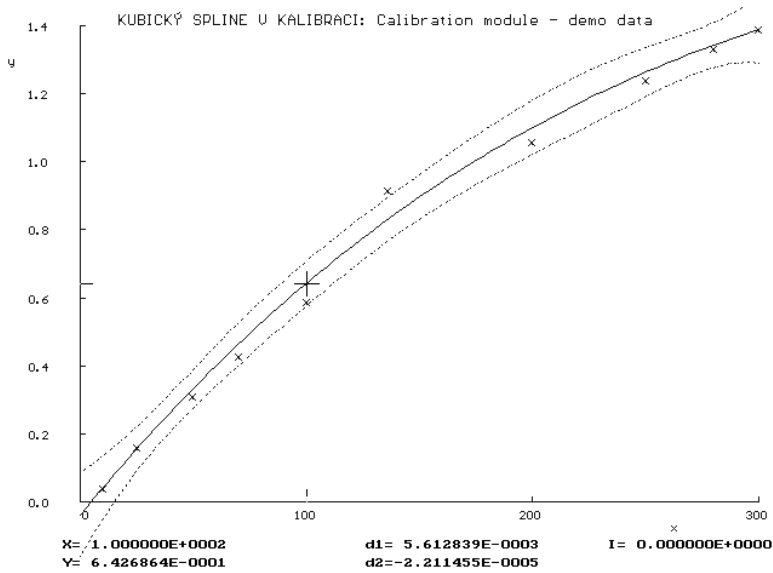
Obr. 2.2 – Regresní křivka – kvadratický spline (0 uzlů)



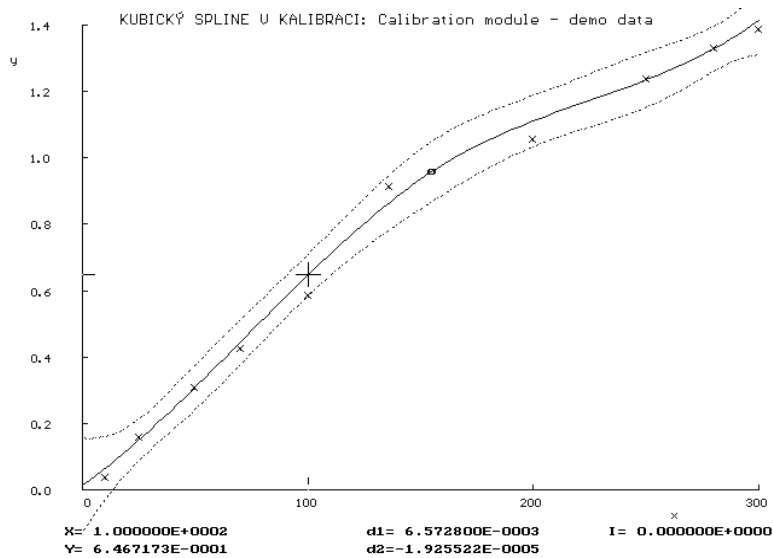
Obr. 2.3 – Regresní křivka – kvadratický spline (1 uzel)



Obr. 2.4 – Regresní křivka – kvadratický spline (2 uzly)



Obr. 2.5 – Regresní křivka – kubický spline (0 uzlů)



Obr. 2.6 – Regresní křivka – kubický spline (1 uzlu)

Jako nejlepší typ proložení byl vybrán kvadratický spline s 0 uzly z důvodu nejnižšího limitu detekce ze všech testovaných modelů a také dostatečně nízké reziduální směrodatné odchylky. Z regresních křivek pro testované modely (Obr. 2.1. – 2.6.) můžeme také vidět, že pro vybraný model bylo dosaženo nejlepšího proložení experimentálních bodů, co se týče nejužšího pásu spolehlivosti. Byly stanoveny parametry modelu a také byla zjištěna nevýznamnost absolutního členu, jelikož příslušný interval spolehlivosti zahrnoval hodnotu 0. Dále byly stanoveny kalibrační meze pro obsah olova (x) ve vzorku a také pro odezvu (y). Jelikož hodnoty odezvy pro všechny vzorky leží nad limitem detekce, mohl být pro všechny případy stanoven zpětný odhad koncentrace olova ve vzorku.

Parametry modelu:

$$y = -9,7619 \cdot 10^{-6} x^2 + 7,6307 \cdot 10^{-3} x - 2,7318 \cdot 10^{-2}$$

$$\text{pro } k[i - 1] < x < k[i] \quad k[i] = 300,00$$

Významnost absolutního členu:

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
-0,027318	-0,110839	0,056204	Nevýznamný

Kalibrační meze:

kritická úroveň	$y_c = 0,0562$	$x_c = 11,10$
limit detekce	$y_d = 0,1188$	$x_d = 19,64$

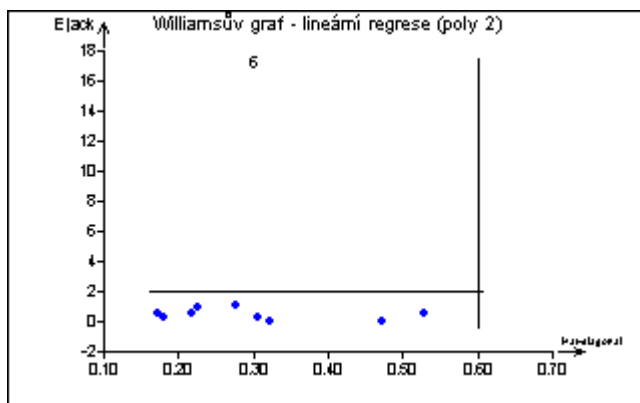
Zpětné odhady pro neznámé vzorky:

	inverzní odhad (ng/ml)	IS dolní (ng/ml)	IS horní (ng/ml)
vzorek 1	42,89	35,51	49,54
vzorek 2	67,62	60,86	74,67
vzorek 3	171,68	158,24	185,56

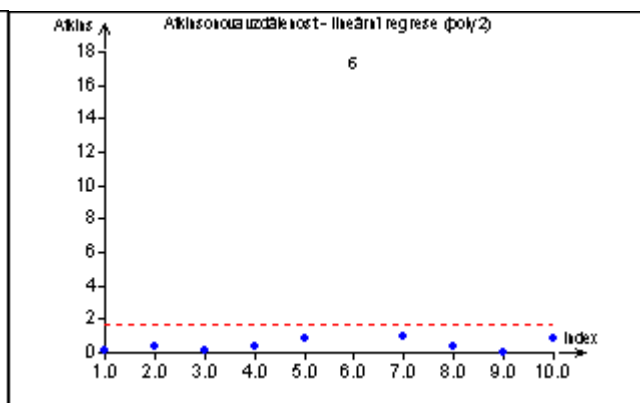
Pomocí lineární regrese (polynom 2 stupně) v QC.Expertu byla testována možnost vyloučení odlehlých bodů. Všechny vybrané grafické diagnostiky (Obr. 2.7 – 2.12) se shodly na odlehlosti bodu 6.

Bod 6 byl tedy z datového souboru vyloučen. Hodnota střední kvadratické chyby predikce klesla ($MEP = 2,77 \cdot 10^{-3} \rightarrow 8,81 \cdot 10^{-5}$). Akaikeho informační kritérium se také po vyloučení bodu 6 snížilo ($AIC = -59,87 \rightarrow -87,59$). Navíc všechny předpoklady pro MNČ byly splněny.

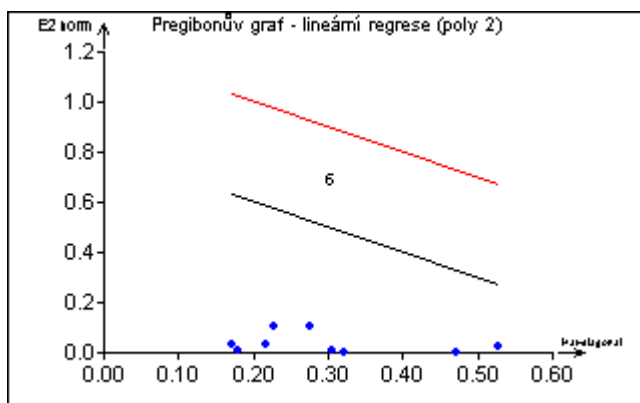
Také z regresní křivky pro původní a nový model je jasné, že vyloučení bodu 6 bylo účelné, došlo ke zúžení pásu spolehlivosti. Rovněž hodnota směrodatné odchylky reziduí se snížila oproti všem testovaným modelům: $s(e) = 6,7617 \cdot 10^{-3}$.



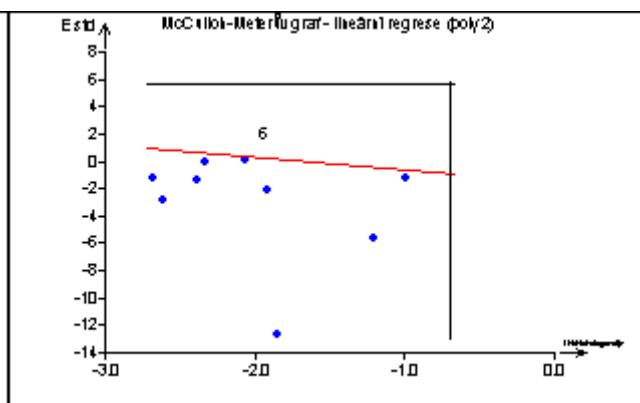
Obr. 2.7 – Williamsův graf



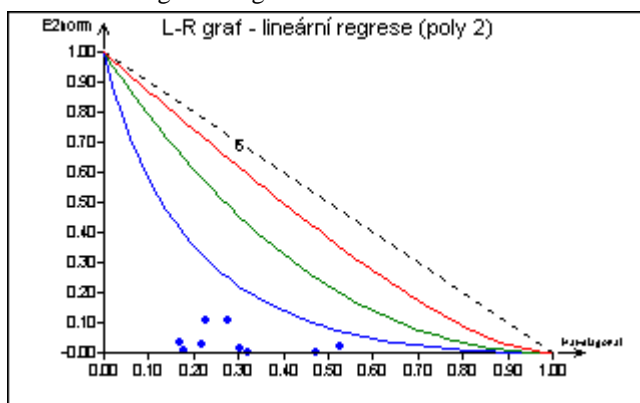
Obr. 2.8 – Atkinsova vzdálenost



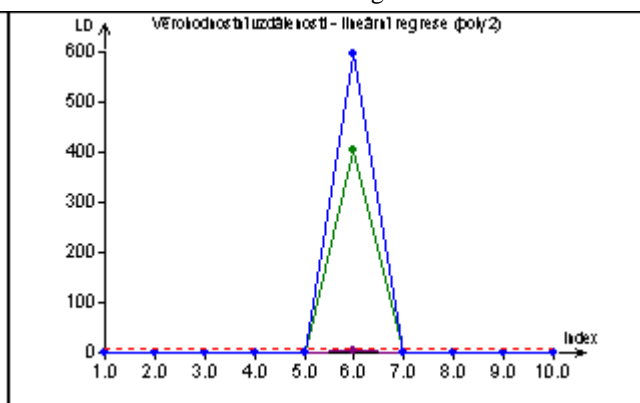
Obr. 2.9 – Pregibonův graf



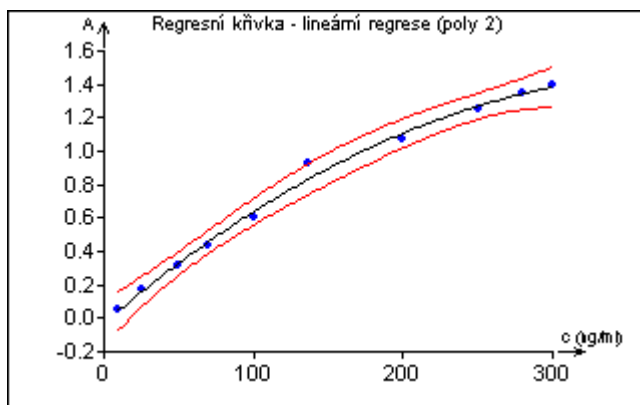
Obr. 2.10 – McCulloh-Meterův graf



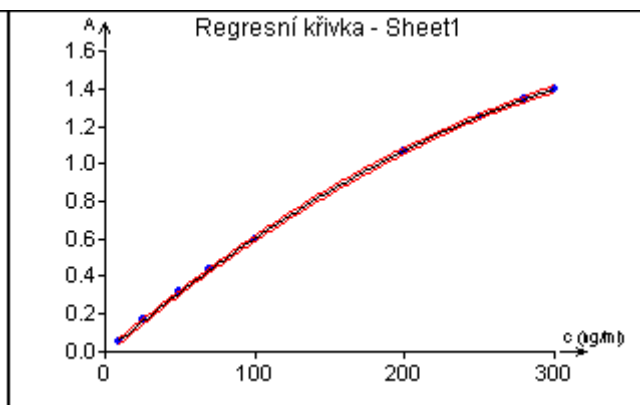
Obr. 2.11 – L-R graf



Obr. 2.12 – Graf věrohodnostní vzdálenosti



Obr. 2.13 – Regresní křivka



Obr. 2.14 – Regresní křivka (po vyloučení bodu 6)

Kalibrační vyhodnocení bylo tedy opětovně provedeno pro model bez bodu 6. Jak je patrné z porovnání parametrů pro původní a nový model, došlo ke snížení kalibračních mezí a také ke zúžení intervalů spolehlivosti pro odhady koncentrace neznámých vzorků.

Parametry modelu:

$$y = -7,0520 \cdot 10^{-6} x^2 + 6,7950 \cdot 10^{-3} x - 5,8123 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{pro } k[i-1] < x < k[i] \quad k[i] = 300,00$$

Významnost absolutního členu:

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
-0,005812	-0,019333	0,007708	Nevýznamný

Kalibrační meze:

kritická úroveň	$y_c = 0,00771$	$x_c = 1,994 \text{ ng/ml}$
limit detekce	$y_d = 0,02042$	$x_d = 3,876 \text{ ng/ml}$

Zpětné odhady pro neznámé vzorky:

	inverzní odhad (ng/ml)	IS dolní (ng/ml)	IS horní (ng/ml)
vzorek 1	44,40	43,19	45,61
vzorek 2	71,50	70,19	72,85
vzorek 3	181,46	179,00	184,02

Závěr: Pro stanovení olova ve vzorku metodou elektrotermické atomové absorpce byla nalezena vhodná kalibrační závislost proložení bodů **funkcí kvadratický spline bez uzlového bodu**. Z datového souboru byl kvůli odlehlosti vyloučen bod 6. Byly vyčísleny bodové a intervalové odhady pro tři neznámé vzorky, hodnoty byly následující (v závorce jsou uvedeny příslušné intervaly spolehlivosti): **vzorek 1 (43,2 ng/ml; 45,6 ng/ml)**, **vzorek 2 (70,2 ng/ml; 72,9 ng/ml)** a **vzorek 3 (179,0 ng/ml; 184,0 ng/ml)**. Byla stanovena kritická úroveň metody ($x_c = 2,0 \text{ ng/ml}$) a limit detekce ($x_d = 3,9 \text{ ng/ml}$).

Úloha 3. Rozlišení mezi lineární a nelineární kalibrací

Zadání: Úkolem je stanovit kalibrační závislost pro zjišťování glukózy. V laboratorním cvičení je glukóza v roztoku stanovována refraktometricky, výstupem jsou procenta % Brix. Stupnice % Brix je přepočtem indexu lomu, představuje hmotnostní procenta cukru v roztoku, tj. gramy cukru ve 100 g roztoku). Z teorie je známá přímková odezva pro závislost % Brix na koncentraci látky v roztoku, ovšem pouze v omezeném rozsahu koncentrací, proto je nutné naleznout nejprve vhodný kalibrační model. Odezva byla také změřena u tří neznámých vzorků. Zjistěte, zda jde v tomto případě o lineární či nelineární kalibraci a stanovte bodový a intervalový odhad koncentrace pro neznámé vzorky, spolu s vyčíslením limitů přesnosti.

Data:

Měření odezvy v % Brix pro kalibrační roztoky o definovaných koncentracích c a stanovení % Brix pro tři neznámé vzorky:

kalibrace		vzorky
c (mol/l)	% Brix	% Brix
0,50	9,0	14,3
0,63	11,0	19,1
0,75	13,8	10,9
0,88	15,4	
1,00	16,8	
1,13	18,7	
1,25	20,8	
1,38	22,3	
1,50	24,4	

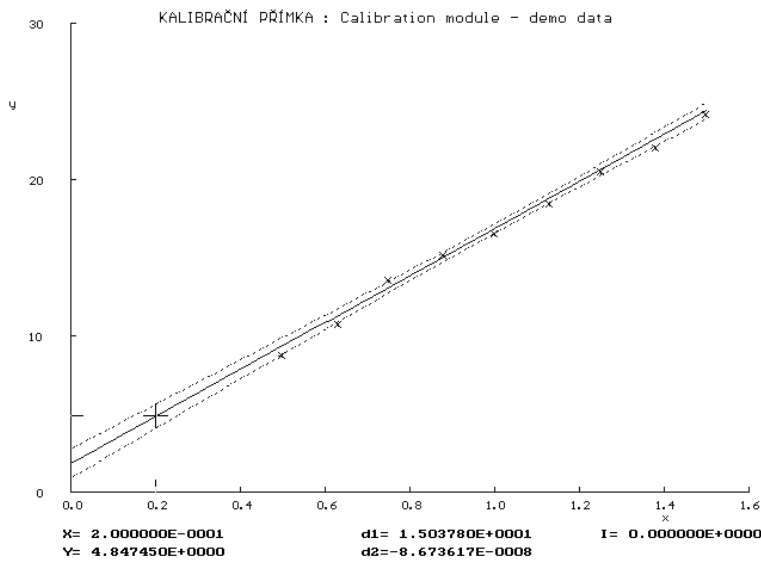
Užitý program: Adstat, QC.Expert 3.2

Řešení:

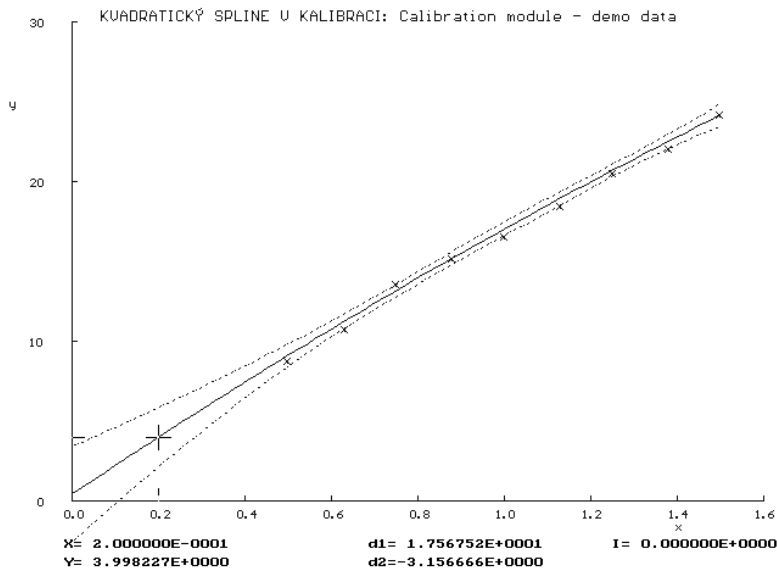
Nejprve je nutné stanovit nejlepší typ proložení experimentálních bodů, aby mohly být zjištěny bodové a intervalové odhady pro koncentraci neznámých vzorků a také limity přesnosti metody. Proto byly zkonstruovány modely o různých typech proložení – lineární a poté kvadratický a kubický spline o různém počtu uzlů.

Vhodný model byl vybrán na základě hodnot odhadu směrodatné odchylky reziduí $s(e)$ a limitu detekce x_d . Také bylo přihlíženo ke grafickému výstupu, především byl sledován tvar a šířka intervalu spolehlivosti proložení. V úvahu byly brány pouze modely s nižším počtem uzlů, kde nedocházelo k výraznému rozšíření pásu spolehlivosti v grafu.

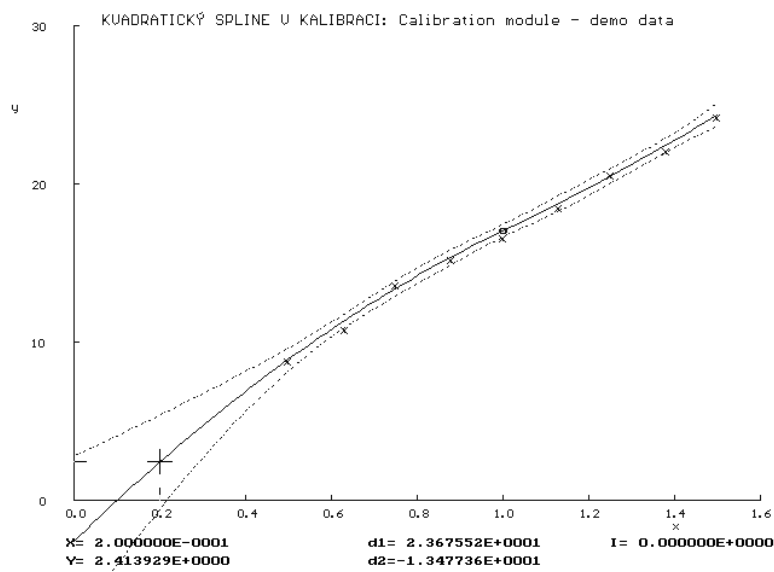
model	$s(e)$	x_d
lineární	0,3653	0,1183
kvadratický spline (0 uzlů)	0,3528	0,2569
kvadratický spline (1 uzel)	0,3094	0,3035
kubický spline (0 uzlů)	0,3180	0,3770



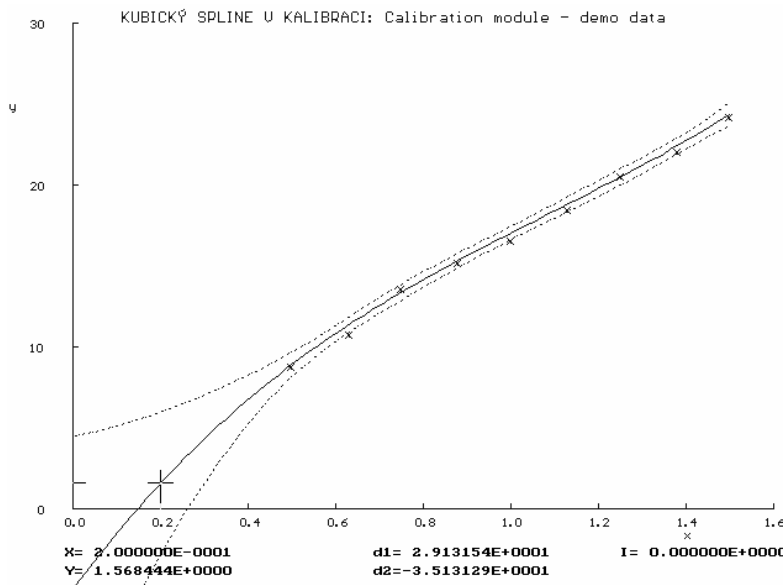
Obr. 3.1 – Regresní křivka – lineární model



Obr. 3.2 – Regresní křivka – kvadratický spline (0 uzlů)



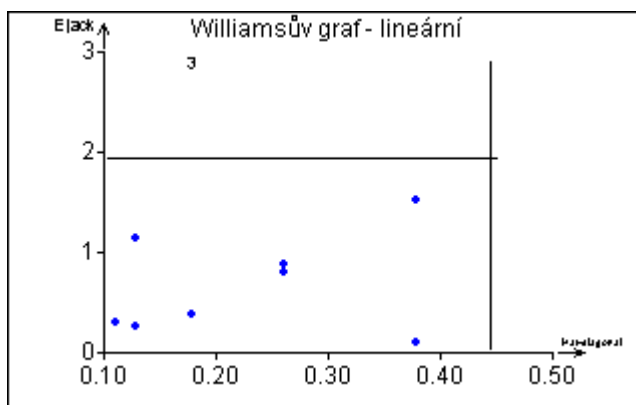
Obr. 3.3 – Regresní křivka – kvadratický spline (1 uzel)



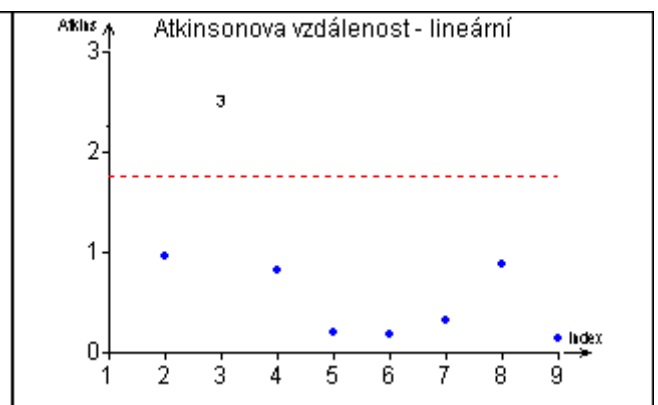
Obr. 3.4 – Regresní křivka – kubický spline (0 uzlů)

Jako nejlepší typ proložení byla vybrána přímka z důvodu nejnižšího limitu detekce ze všech testovaných modelů. Reziduální směrodatná odchylka pro tento model byla sice z testovaných modelů nejvyšší, ale muselo být přihlédnuto také k regresním křivkám modelů (Obr. 3.1. – 3.4.). Pro vybraný model bylo dosaženo nejlepšího proložení experimentálních bodů, co se týče nejužšího pásu spolehlivosti, u ostatních modelů se již pás spolehlivosti u nižších hodnot příliš rozšiřoval.

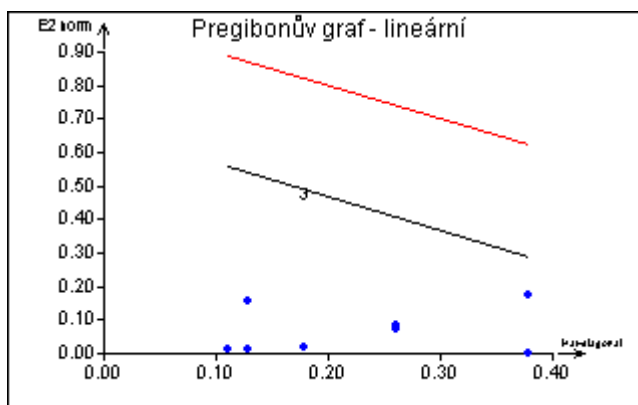
Pomocí lineární regrese (přímková závislost) byla testována možnost vyloučení odlehlých bodů, aby mohlo být provedeno následné kalibrační stanovení. Vybrané grafické diagnostiky (Obr. 1.5 – 1.10) se shodly na odlehlosti bodu 3.



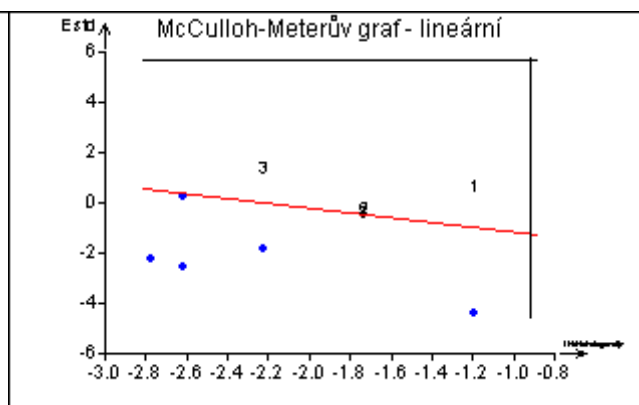
Obr. 1.5 – Williamsův graf



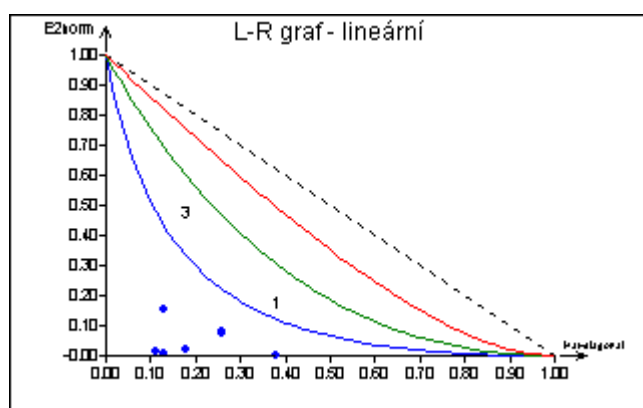
Obr. 1.6 – Atkinsonova vzdálenost



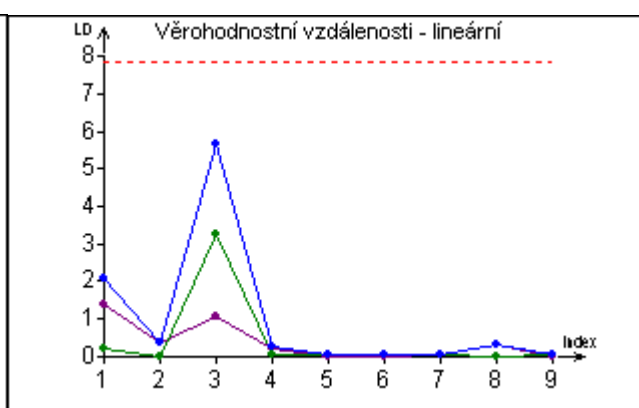
Obr. 1.7 – Pregibonův graf



Obr. 1.8 – McCulloh-Meterův graf



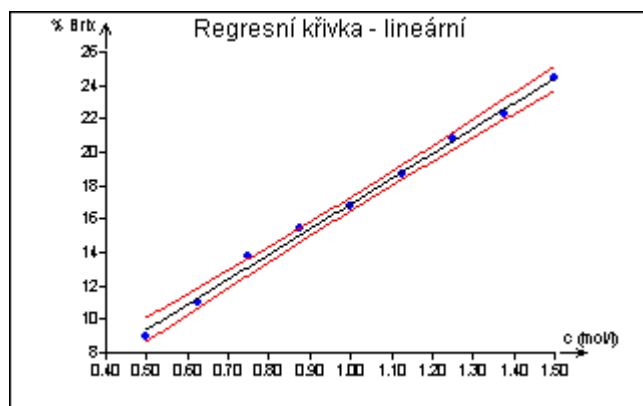
Obr. 1.9 – L-R graf



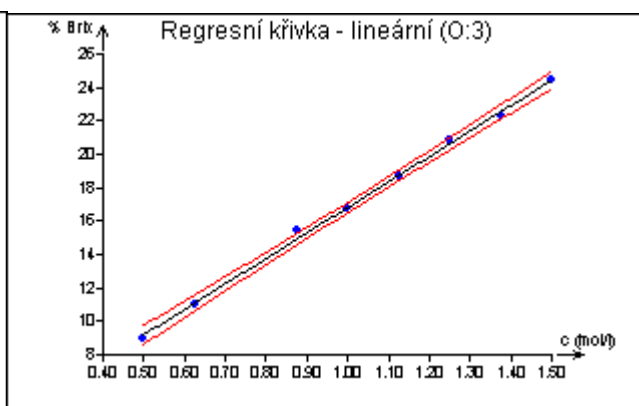
Obr. 1.10 – Graf věrohodnostní vzdálenosti

Bod 3 byl tedy z datového souboru vyloučen a dále bylo posuzováno zlepšení charakteristik modelu po vyloučení odlehlého bodu z hlediska regresní přímky, kvality proložení a testování předpokladu MNČ.

Navržený lineární model pro refraktometrické stanovení glukózy lze posoudit jako vhodný, jelikož je již z regresního grafu vidět (Obr. 1.11 a 1.12), že přímková závislost je dodržena. Také je patrné, že po vyloučení odlehlého bodu 3 došlo k mírnému zúžení pásu spolehlivosti regrese.



Obr. 1.11 – Regresní přímka



Obr. 1.12 Regr. přímka (po vyloučení bodu 3)

S vyloučením odlehlého bodu došlo ke zlepšení všech sledovaných parametrů regrese. Hodnota koeficientu determinace, charakterizující podíl experimentálních bodů vyhovujících navrženému modelu, vzrostla. A především se snížily hodnoty střední kvadratické chyby predikce MEP a Akaiikova informačního kritéria AIC.

parametr	původní model	po vyloučení bodu 3
Vícenásobný korelační koeficient R	0,9979	0,9991
Koeficient determinace R ²	0,9958	0,9982
Predikovaný korelační koeficient R _p	0,9860	0,9937
Střední kvadratická chyba predikce MEP	0,167	0,079
Akaiikova informační kritérium	-16,88	-20,53

Kritika metody:

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F: 3246,101498
 Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m): 5,987377607
 Pravděpodobnost: 1,963867569E-009
 Závěr: Model je významný

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW: 0,1777193413
 Kvantil Chi²(1-alfa,1): 3,841458829
 Pravděpodobnost: 0,673340573
 Závěr: Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB: 1,879661131
 Kvantil Chi²(1-alfa,2): 5,991464547
 Pravděpodobnost: 0,3906940267
 Závěr: Rezidua mají normální rozdělení.

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA: 0,2331243124
 Kvantil Chi²(1-alfa,1): 3,841458829
 Pravděpodobnost: 0,6292168129
 Závěr: Autokorelace je nevýznamná

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria S_g: 1,620185175
 Kvantil N(1-alfa/2): 1,959963999
 Pravděpodobnost: 0,1051925051
 Závěr: V reziduích není trend.

Všechny předpoklady pro použití MNC u výsledného modelu (po vyloučení bodu 3) byly splněny.

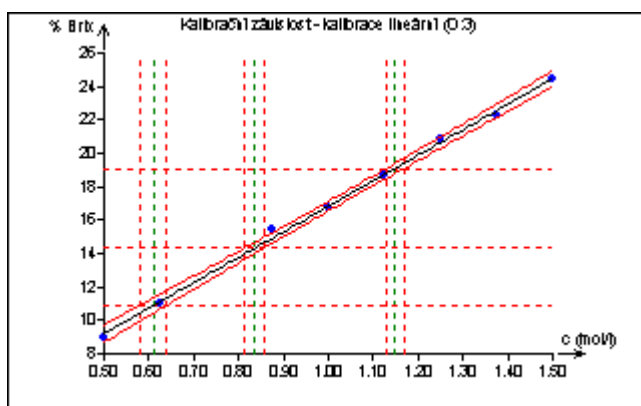
Pomocí klasické MNC byly stanoveny odhady regresních parametrů. Analýza dat probíhala na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Užitím Studentova t-testu bylo zjištěno, že úsek lze považovat za statisticky významný, jelikož příslušný interval spolehlivosti neobsahuje hodnotu 0.

Proměnná	Odhad	Směr, Odch,	Závěr	Pravděpodobnost	Spodní mez	Horní mez
Abs	1,5730	0,2898	Významný	0,0016	0,8639	2,2820
c (mol/l)	15,2505	0,2677	Významný	1,9639E-009	14,595	15,9054

Kalibrace:

Zpětné odhady pro neznámé vzorky:

	inverzní odhad (mol/l)	IS dolní (mol/l)	IS horní (mol/l)
vzorek 1	0,835	0,812	0,856
vzorek 2	1,149	1,130	1,169
vzorek 3	0,612	0,580	0,640



Obr. 1.13 Regresní přímka s inverzními odhady

Kalibrační meze:

Metoda	y_c	y_d	y_q	x_c	x_d	x_q
Metoda podle ISO 11843-2	2,6	2,9	3,6	0,067	0,084	0,133
Přímá metoda analytu	2,5	3,3	4,1	0,061	0,116	0,168
Přímá metoda signálu, IUPAC	2,5	3,4	4,2	0,061	0,118	0,173
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	2,5	3,3	4,1	0,058	0,116	0,168
Metoda $K \cdot \text{Sigma}$ z regrese	2,5	3,4	4,4	0,061	0,122	0,183
Metoda $K \cdot \text{Sigma}$, ACS	2,3	3,1	3,8	0,049	0,098	0,147

Pomocí několika metod byly stanoveny kalibrační meze pro koncentraci glukózy (x) ve vzorku a také pro odezvu (y). Jelikož hodnoty odezvy pro všechny tři neznámé vzorky leží nad těmito limity, je možné ve vzorcích kvantitativně stanovit glukózu.

Závěr: Pro refraktometrické stanovení glukózy ve vzorku byla nalezena vhodná kalibrační závislost. Jako model s nejlepšími parametry byla vybrána **přímka**. Z datového souboru byl kvůli odlehlosti vyloučen bod 3. Byly vyčísleny bodové a intervalové odhady pro tři neznámé vzorky, hodnoty byly následující (v závorce jsou uvedeny příslušné intervaly spolehlivosti): **vzorek 1 (0,81 mol/l; 0,86 mol/l), vzorek 2 (1,13 mol/l; 1,17 mol/l) a vzorek 3 (0,58 mol/l; 0,64 mol/l)**. Byla stanoven kritická úroveň metody ($x_c = 0,06 \text{ mol/l}$), limit detekce ($x_d = 0,12 \text{ mol/l}$) a limit stanovitelnosti ($x_q = 0,17 \text{ mol/l}$) – brány přibližné hodnoty, na kterých se shodlo nejvíce metod pro výpočet kritických mezí.