



**Fakulta chemicko technologická
Katedra analytické chemie
licenční studium Management systému jakosti**

Kalibrace a limity její přesnosti

Autor: Ing. Radek Růčka

Přednášející: Prof. RNDr. Milan Meloun, DrS

1. VÝPOČET OBSAHU OXIDU TITANIČITÉHO V SUSPENZI POMOCÍ ZMĚŘENÉ SUŠINY (lineární kalibrace)

ZADÁNÍ

Jednou z výrobních operací při výrobě titanové běloby je anorganická povrchová úprava. Při výpočtu přísadků jednotlivých činidel se vychází z množství oxidu titaničitého určeného k povrchové úpravě. K rychlému a relativně přesnému stanovení obsahu TiO_2 v suspenzi slouží přímo na provozě přístroj na stanovení sušiny Mettler Toledo. Ze zjištěných obsahů sušiny se pomocí kalibrační křivky počítá obsah TiO_2 . Kalibrační křivka byla získána z měření sušiny na přístroji Mettler a analyticky (titračně) stanoveným obsahem TiO_2 .

Úkolem je posouzení kalibračního modelu a určení koncentrace TiO_2 v neznámých vzorcích suspenze.

DATA

Tabulka 1.1: Stanovení obsahu TiO_2 v suspenzi

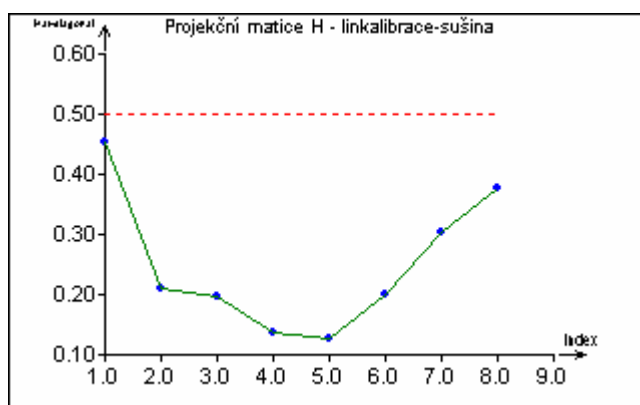
stanovení	sušina [%]	obsah TiO_2 [g/l]
1	6,98	45,20
2	8,43	72,10
3	11,12	99,10
4	15,27	153,00
5	17,90	180,00
6	20,84	206,90
7	21,23	233,90
8	26,37	314,80
neznámý vzorek 1	10,9	-
neznámý vzorek 2	24,8	-
neznámý vzorek 3	12,5	-

Program: *QC Expert 2.5:* modul Lineární regrese
modul Kalibrace

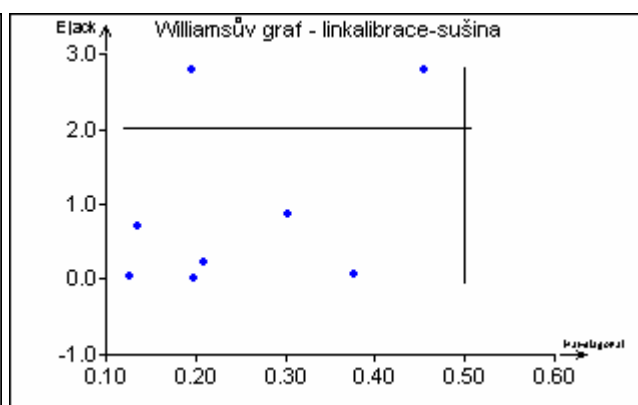
Název souboru s daty: *data_linkal.txt*

VYHODNOCENÍ

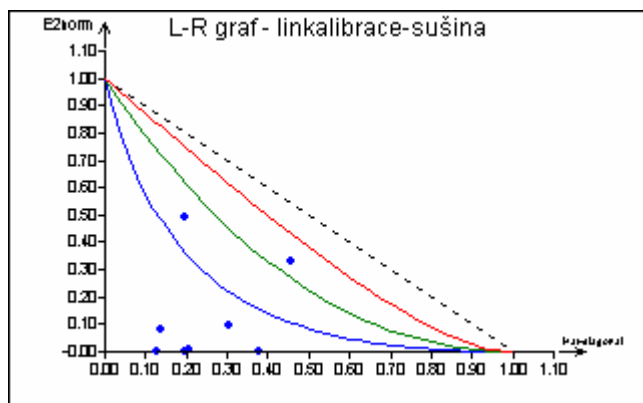
Regresní diagnostika



Obrázek 1.1: Indikace vlivných bodů.



Obrázek 1.2: Indikace vlivných bodů.



Obrázek 1.3: Indikace vlivných bodů.

Williamsův a L-R graf indikují přítomnost dvou vybočujících bodů, graf projekční matice vybočující body nezaznamenal.

Vzhledem k počtu dat nebylo provedeno odstranění žádného z těchto bodů.

Odhady parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.Odch.	Závěr	P	Spodní mez	Horní mez
Abs	-46,8460	10,8436	Významný	0,0049	-73,3795	-20,3126
Sušina	13,1088	0,6290	Významný	7,9E-007	11,566	14,6480

Statistické charakteristiky regrese

Vícenásobný korelační koeficient R : 0,9931631554
 Koeficient determinace R² : 0,9863730532
 Predikovaný korelační koeficient Rp : 0,941474048
 Střední kvadratická chyba predikce MEP :210,1902181
 Akaikeho informační kritérium : 40,55020457

Testování regresního tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F : 434,3040583
 Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) : 5,987377607
 Pravděpodobnost : 7,948360787E-007
 Závěr : Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC : -0,02103480162
 Závěr : Model je korektní.

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW : 1,537767823
 Kvantil Chi²(1-alfa,1) : 3,841458829
 Pravděpodobnost : 0,2149503662
 Závěr : Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB : 0,2315063269
 Kvantil Chi²(1-alfa,2) : 5,991464547
 Pravděpodobnost : 0,8906950522

Závěr : Rezidua mají normální rozdělení.

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA : 0,2341872169

Kvantil $\chi^2(1-\alpha,1)$: 3,841458829

Pravděpodobnost : 0,2149503662

Závěr : Autokorelace je nevýznamná

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW : 1,275675084

Kritické hodnoty DW 0 2

Závěr : Pozitivní autokorelace reziduí není prokázána.

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg : 1,029857301

Kvantil $N(1-\alpha/2)$: 1,959963999

Pravděpodobnost : 0,3030769973

Závěr : V reziduích není trend.

Kalibrace

Počet dat: 8

Hladina významnosti : 0,05

Volba kalibračního modelu : Automatická

Použitý kalibrační model : Lineární

Vhodnost použitého modelu : Vyhovuje

Použita vážená regrese : Ano

Parametry kalibračního modelu

Parametr	Odhad	Sm. odchylka	Spodní mez	Horní mez
Abs.	-38,3069337	6,577142233	-54,40062097	-22,21324642
X	12,46990866	0,5622461443	11,09414191	13,84567542

Významnost absolutního členu

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Závěr
-38,3069337	-54,40062097	-22,21324642	Významný

Validace směrnice

Hodnota	Spodní mez	Horní mez	Směrnice=1
12,46990866	11,09414191	13,84567542	Ne

Citlivost metody : 12,46990866

Zvolený faktor K : 1,959963999

Vypočítaná sm.odch. slepého signálu : 12,43014947

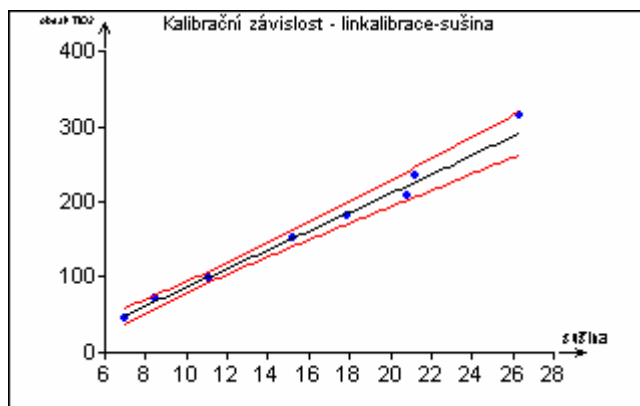
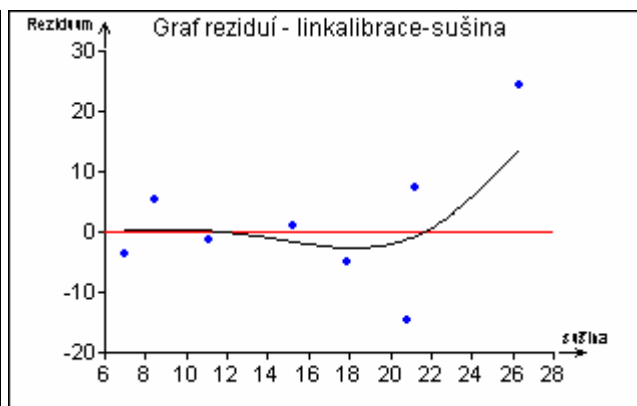
Kalibrační meze c..kritická d..detekce q..kvantifikace

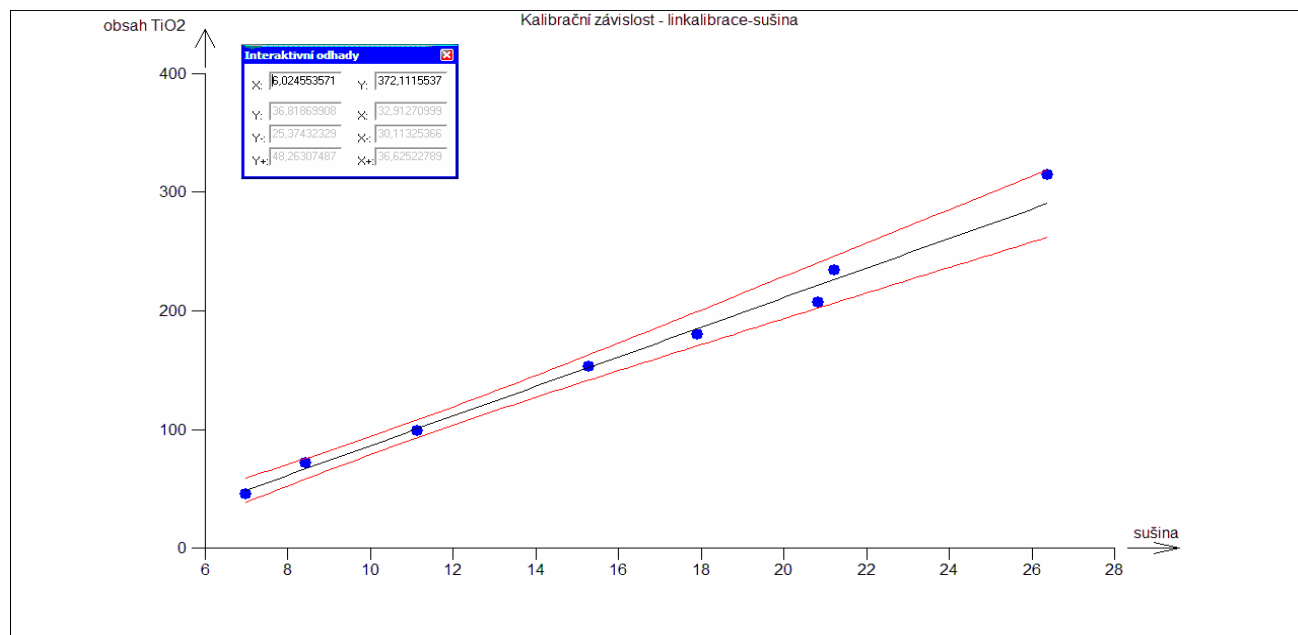
Metoda	Yc	Yd	Yq	Xc	Xd	Xq	Yq(10 \square)	Xq(10 \square)
Metoda K*Sigma, ACS	-13,9442	10,4183	34,7810	1,9537	3,9074	5,8611	85,9945	5,8611
Přímá metoda analytu	17,4982	-1,4894	12,7490	1,6687	2,9525	4,0943	-	-
Přímá metoda signálu, IUPAC	-17,4982	0,5667	16,3160	1,6687	3,1173	4,3803	-	-
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	-19,9255	-1,5440	12,7003	1,47406	2,9481	4,0904	-	-
Metoda K*Sigma z regrese	-17,4982	3,3104	24,1190	1,6687	3,3374	5,0061	31,0553	5,5623

Analýza reziduí

Reziduální součet čtverců : 927,0516955
Půměrné absolutní reziduuum : 7,785640089
Korelační koeficient : 0,991777998

Číslo měření	Naměřené X	Naměřené Y	Vypočítané Y	Reziduuum	Váha
1	26,37	314,8	290,524	24,275	0,2607
2	21,23	233,9	226,429	7,4707	0,7003
3	20,84	206,9	221,565	-14,6659	0,7604
4	17,9	180	184,904	-4,9044	1,4497
5	15,27	153	152,108	0,8914	3,1387
6	11,12	99,1	100,358	-1,2584	8,2208
7	8,43	72,1	66,8143	5,2856	7,1204
8	6,98	45,2	48,7330	-3,5330	6,6195

Grafické vyjádření**Obrázek 1.4:** Regresní přímka.**Obrázek 1.5:** Zakřivení pravděpodobně svědčí o přítomnosti vybočujícího bodu. Z důvodu malého počtu dat nebyl vyloučen.



Obrázek 1.6: Příklad interaktivního odhadu.

Tabulka 1.2: Stanovení obsahu TiO_2 v neznámých vzorcích suspenze

sušina [%] X		12,5	10,9	24,8
koncentrace TiO_2 [$g \cdot l^{-1}$] Y		117,5669	97,6151	270,94685
koncentrace TiO_2 [$g \cdot l^{-1}$] Y-		109,6635	90,2185	245,1966
koncentrace TiO_2 [$g \cdot l^{-1}$] Y+		125,4703	105,0116	296,6970

SOUHRN A ZÁVĚR

Na základě výsledků testování byl kalibrační model určen jako vyhovující. V tabulce 1.2. jsou uvedeny výsledky pro neznámé vzorky. Pro nalezení neznámé koncentrace TiO_2 z naměřené sušiny je možné využít i rovnici regresní přímky.

Rovnice regresní přímky

$$\text{“obsah } TiO_2\text{“} = 12,470 (\pm 0,562) \cdot \text{“sušina“} - 38,307 (\pm 6,577)$$

2. KALIBRAČNÍ MODEL OBSAHU OLOVA METODOU AAS A MÍRY PŘESNOSTI KALIBRACE (K 615) (nelineární kalibrace)

ZADÁNÍ

Sestrojte kalibrační model koncentrace olova, získaný proměřením standardních vzorků olova metodou elektrotermické absorpce s grafitovou kyvetou $y=\beta_0+\beta_1x$.

Vyšetřete linearitu kalibračního grafu, určete parametry kalibračního grafu a kalibrační limity. *Jaká je koncentrace neznámých vzorků olova, když naměřené absorbance vzorků byly 0,282/ 0,444/ 0,725 a 0,995?*

DATA

Tabulka 2.1: Kalibrační závislost

koncentrace Pb [ng ml ⁻¹]	10	25	50	70	100	136	200	250	280	300
absorbance A	0,050	0,170	0,320	0,437	0,600	0,927	1,070	1,250	1,344	1,400

Tabulka 2.2: Neznámý vzorek

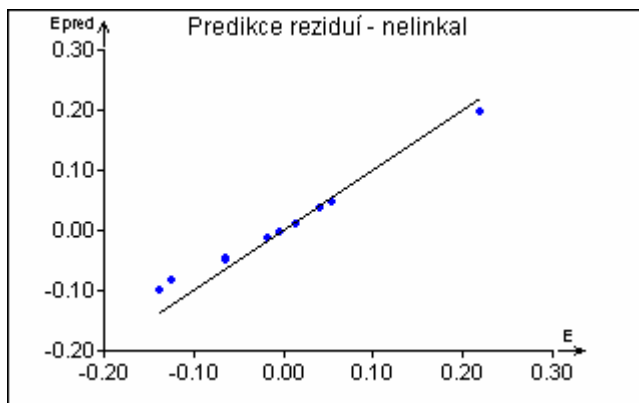
absorbance A	0,282	0,444	0,725	0,995
--------------	-------	-------	-------	-------

Program: Program ADSTAT : modul Kalibrace
Program QC Expert 2.5: modul Lineární regrese (regresní diagnostika)

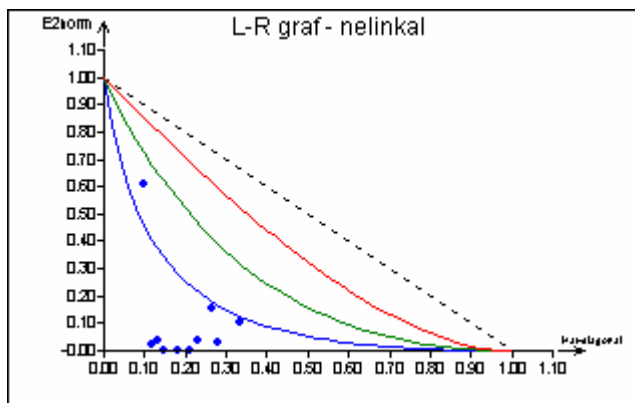
Název souboru s daty: data_nelinkal.txt

VYHODNOCENÍ

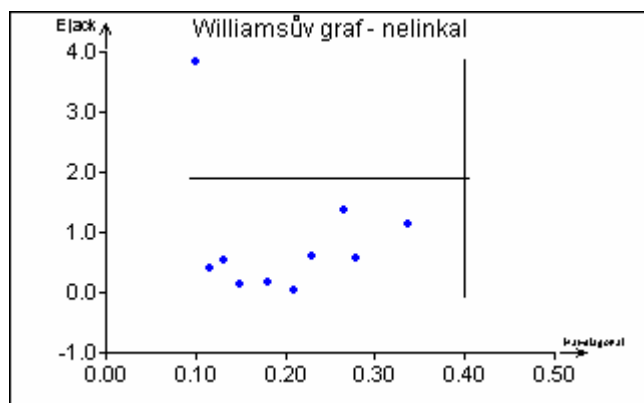
Regresní diagnostika



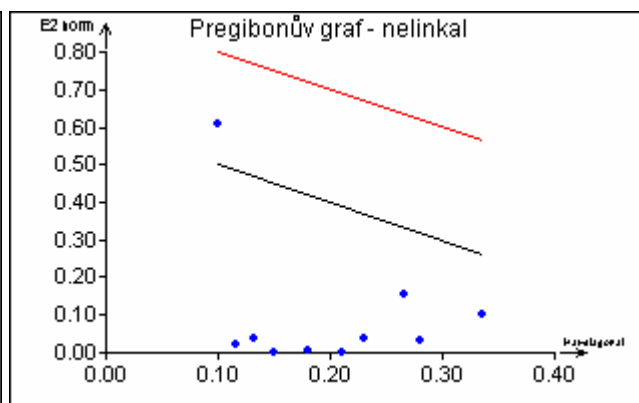
Obrázek 2.1



Obrázek 2.2



Obrázek 2.3



Obrázek 2.4

Jako možný vlivný bod byl identifikován bod č. 6.

Hladina významnosti :	0,05
Kvantil $t(1-\alpha/2, n-m)$:	2,30600413519908
Kvantil $F(1-\alpha, m, n-m)$:	5,31765507155526
Absolutní člen :	Ano
Počet platných řádků :	10
Počet parametrů :	2
Metoda :	Nejmenší čtverce
Transformace :	Bez transformace

Odhady parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.Odch.	Závěr	P	Spodní mez	Horní mez
Abs	0,10438	0,048439	Nevýznamný	0,06328	-0,007315	0,216089
konc. Pb	0,00459	0,00027	Významný	1,7348E-007	0,00395	0,00522

Statistické charakteristiky regrese

Vícenásobný korelační koeficient R :	0,9858282319
Koeficient determinace R^2 :	0,9718573029
Predikovaný korelační koeficient R_p :	0,9182296299
Střední kvad. chyba predikce MEP :	0,009563906737
Akaikeho informační kritérium :	-46,44338403

Kalibrace

Chybí kalibrační křivka (problém při snímání grafu).

Parametry kalibrace

Koefficienty rovnice :

$$f[i]*x^2+g[i]*x+h[i] \quad \text{pro } k[i-1] < x \leq k[i]$$

k[i]	f[i]	g[i]	h[i]
1.5500E+02	-7.6851E-06	6.9121E-03	-8.9931E-03
3.0000E+02	-6.3998E-06	6.5137E-03	2.1884E-02

Analýza reziduí

Reziduální součet čtverců, RSC	2.4609E-04
Průměr absolutních hodnot reziduí, Me	2.7750E-03
Průměr relativních reziduí, Mer [%]	2.238
Odhad reziduálního rozptylu, s ² (e)	3.5156E-05
Odhad směrodatné odchylky reziduí, s (e)	5.9293E-03

Určení kalibračních mezí

Kritická úroveň	y _c	0,00459246	x _c	1,969781
Limita detekce	y _d	0,01708866	x _d	3,789296

Kalibrační tabulka

absorbance	koncentrace	L _D	L _H
0,282	44,279	43,243	45,314
0,444	71,167	69,921	72,437
0,725	123,014	121,480	124,534
0,995	181,906	179,938	183,940

SOUHRN A ZÁVĚR

Jako nejvhodnější byl určen kalibrační model „kvadratický spline“ s jedním uzlem s konstantním uzlovým intervalem. Měl nejužší proložení konfidenčních intervalů okolo kalibrační křivky.

Koncentrace neznámých vzorků Pb [ng/ml] odpovídající naměřeným absorbancím jsou uvedeny v kalibrační tabulce.

Hodnota limity detekce stanovení obsahu Pb metodou AAS je x_d = 3,789 ng/ml, (y_d = 0,017). Z toho vyplývá, že pokud hodnota absorbance je pod touto limitou, výsledek obsahu Pb není korektní. Kritická úroveň stanovení je x_c = 1,970 ng/ml.

3. KALIBRACE BENZENU NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU (K 628) (rozišení mezi lineární a nelineární kalibrací)

ZADÁNÍ

Na chromatografickém přístroji TDAS 5000 byla provedena kalibrace benzenu signály pro koncentraci x . Nalezněte vhodný kalibrační model $y=f(x)$, vyšetřete vlivné body, posuďte spolehlivost navrženého modelu a míry přesnosti kalibrace.

Jaká je koncentrace benzenu pro velikost signálu $y^*=333, 444$ a 555 .

DATA

Tabulka 3.1: Kalibrační závislost

koncentrace [X]	200	200	200	400	400	600	600	800	800	800	800	1000
signál [Y]	336,65	337,40	309,91	609,41	544,90	785,93	808,44	1027,8	1060,1	991,51	1010,6	1189,4
koncentrace [X]	1000	2000	2000	4000	6000	6000	8000	10000	9000	6800	4800	2800
signál [Y]	1232,4	2399,9	2438,5	4524,6	5924,8	5972,9	6804,6	7812,6	7416	6371	5052	3294

Tabulka 3.2: Neznámý vzorek

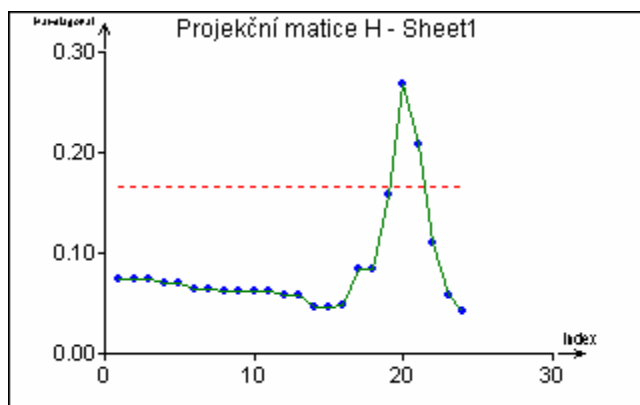
signál [Y]	333	444	555
------------	-----	-----	-----

Program: Program ADSTAT : modul Kalibrace
Program QC Expert 2.5: modul Lineární regrese (regresní diagnostika)

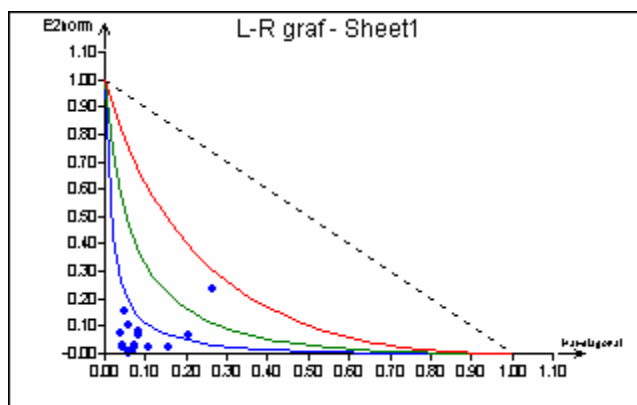
Název souboru s daty: data_rozliseni.txt

VYHODNOCENÍ

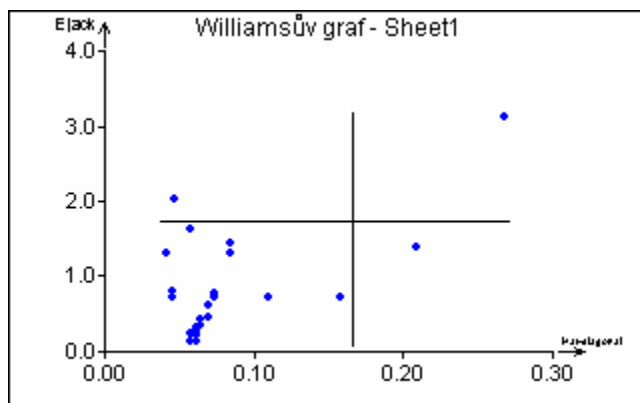
Regresní diagnostika



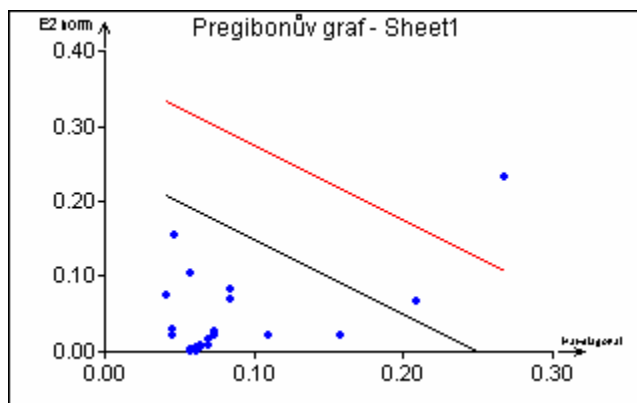
Obrázek 3.1



Obrázek 3.2



Obrázek 3.3



Obrázek 3.4

Jako možný vlivný bod byl identifikován bod č. 20.

Hladina významnosti :	0,05
Kvantil $t(1-\alpha/2, n-m)$:	2,07387306790333
Kvantil $F(1-\alpha, m, n-m)$:	4,30094950177478
Absolutní člen :	Ano
Počet platných řádků :	24
Počet parametrů :	2
Metoda :	Nejmenší čtverce
Transformace :	Bez transformace

Odhady parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.Odch.	Závěr	P	Spodní mez	Horní mez
Abs	456,079	114,617	Významný	0,000634	218,378	693,7810
koncentrace	0,8281	0,0272	Významný	0	0,7716	0,8847

Statistické charakteristiky regrese

Vícenásobný korelační koeficient R :	0,9882787832
Koeficient determinace R^2 :	0,9766949534
Predikovaný korelační koeficient R_p :	0,9383256497
Střední kvad. chyba predikce MEP :	205615,6856
Akaikeho informační kritérium :	290,5102038

Kalibrace

Chybí kalibrační křivka (problém při snímání grafu).

Porovnání kalibračních závislostí

Vhodnost použitého modelu lze posoudit jak z grafického zobrazení kalibrace, tak pomocí odhadu směrodatné odchylky reziduí $s_{(e)}$ a limity detekce x_d .

Model	Odhad směrodatné odchylky reziduí $s_{(e)}$	Limita detekce x_d
Přímkový	408,490	457,220
Lineární spline - 1 uzel	83,799	103,227
Lineární spline - 2 uzly	49,096	64,265
Kvadratický spline - 1 uzel	70,135	93,127
Kvadratický spline - 2 uzly	46,511	80,122
Kvadratický spline - 3 uzly	45,111	93,355

Parametry kalibrace

Koeficienty rovnice :

$$f[i]*x^2 + g[i]*x + h[i] \quad \text{pro } k[i-1] < x \leq k[i]$$

$k[i]$	$f[i]$	$g[i]$	$h[i]$
3.4667E+03	-3.1494E-05	1.2283E+00	6.9870E+01
6.7333E+03	-8.8013E-05	1.6201E+00	-6.0936E+02
1.0000E+04	9.9220E-06	3.0127E-01	3.8308E+03

Analýza reziduí

Reziduální součet čtverců, RSC	4.1101E+04
Průměr absolutních hodnot reziduí, M_e	3.3676E+01
Průměr relativních reziduí, M_{er} [%]	2.399
Odhad reziduálního rozptylu, $s^2(e)$	2.1632E+03
Odhad směrodatné odchylky reziduí, $s(e)$	4.6511E+01

Určení kalibračních mezí

Kritická úroveň	y_c	121,451	x_c	42,040
Limita detekce	y_d	168,080	x_d	80,123

Kalibrační tabulka

signál	koncentrace	L_D	L_H
333	215,419	181,778	246,413
444	307,018	277,124	334,870
555	399,056	372,340	424,281

SOUHRN A ZÁVĚR

Jako nejvhodnější byl určen kalibrační model, nejlépe vyhovuje „kvadratický spline“ se dvěma uzly s konstantními uzlovými intervaly. Měl nejužší proložení konfidenčních intervalů okolo kalibrační křivky.

Koncentrace neznámých vzorků benzenu odpovídající naměřeným signálům jsou uvedeny v kalibrační tabulce.

Hodnota limity detekce stanovení obsahu benzenu metodou plynové chromatografie je $x_d = 80,123$, ($y_d = 168,080$). Z toho vyplývá, že pokud hodnota signálu je pod touto limitou, výsledek obsahu benzenu není korektní. Kritická úroveň stanovení je $x_c = 42,040$.