

**Univerzita Pardubice**

**Fakulta chemicko-technologická  
Katedra analytickej chémie**

**“ Interaktívna štatistická analýza dát“**  
(Licenčné štúdium)

**5. semestrálna práca**

**Kalibrácia a limity jej presnosti**

Predmet: *Kalibrácia a limity jej presnosti*  
Prednášajúci: *Prof. RNDr. Milan Meloun, DrSc.*

## Obsah

Úloha 1	Lineárna kalibrácia.....	3
1.1	Zadanie.....	3
1.2	Dáta.....	3
1.3	Riešenie.....	3
1.3.1	Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy.....	3
1.3.2	Analýza rezíduí a diagnostika vplyvných bodov.....	4
1.3.3	Testovanie regresného tripletu.....	6
1.4	Kalibrácia.....	7
1.4.1	Parametre kalibrácie.....	7
1.4.2	Kalibračné medze.....	8
1.4.3	Kalibračná tabuľka.....	8
Úloha 2	Nelineárna kalibrácia.....	9
2.1	Zadanie.....	9
2.2	Dáta.....	9
2.3	Riešenie.....	9
2.3.1	Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy.....	9
2.3.2	Odhady parametrov a testy významnosti.....	10
2.3.3	Základné štatistické charakteristiky.....	10
2.3.4	Regresná diagnostika.....	11
2.3.5	Testovanie regresného tripletu.....	11
2.4	Kalibrácia.....	12
2.4.1	Lineárny spline.....	12
2.4.2	Kvadratický spline.....	12
2.4.3	Kubický spline.....	13
2.5	Kalibračná rovnica.....	13
2.6	Kalibračná tabuľka.....	13
Úloha 3	Rozlíšenie medzi lineárnou a nelineárnou kalibráciou.....	15
3.1	Zadanie.....	15
3.2	Dáta.....	15
3.3	Riešenie.....	15
3.3.1	Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy.....	15
3.3.2	Odhady parametrov a testy významnosti.....	16
3.3.3	Základné štatistické charakteristiky.....	16
3.3.4	Regresná diagnostika a analýza rezíduí.....	16
3.3.5	Testovanie regresného tripletu.....	17
3.4	Kalibrácia.....	18
3.4.1	Kvadratický spline.....	18
3.4.2	Kubický spline.....	18
3.5	Kalibračná rovnica.....	19
3.6	Kalibračná tabuľka.....	19

## 1. úloha: Lineárna kalibrácia

### 1.1 Zadanie

Stanovenie chemickej čistoty rádiofarmaka [11C]-cholínu, injekcia (11C-CHL) sa realizuje na ionexovej kolóne metódou kvapalinovej chromatografie. Kontrola kvality spočíva v stanovení koncentrácie N,N-dimetylaminoetanolu (DMAE), jedného z prekursorov výroby spomínaného rádiofarmaka a neaktívneho cholínu (CHL). Pre prekursor DMAE sa pripravilo sedem kalibračných roztokov a získali sa odozvy – plochy píkov z chromatografického systému vybaveného vodivostným detektorom. Rovnakým spôsobom sa získali odozvy pre DMAE v šaržiach rádiofarmaka 11C-CHL.

Vyjadrite bodový a intervalový odhad pre koncentrácie DMAE vo vzorkách 11C-CHL a určte limity jeho presnosti.

### 1.2 Dáta

Tab. 1: Kalibračné hodnoty a hodnoty vzoriek pre DMAE (Kalibracia\_Darina\_Tothova.xls, darina5A.txt, darina5A, darina\_5\_sem\_praca.vts)

Č. vzorky	c(DMAE), µg/ml	A(DMAE), (µS/cm).min
KK1	2	0,068
KK2	3	0,110
KK3	5	0,178
KK4	7	0,231
KK5	10	0,338
KK6	12	0,418
KK7	20	0,711
vzorka 1	?	0,077
vzorka 2	?	0,087
vzorka 3	?	0,112

### 1.3 Riešenie

Pri riešení zadania sa použil program QC Expert (viď nižšie uvedené výstupy) a pre porovnanie aj program ADSTAT. Z metód interaktívnej štatistickej analýzy sa použila **regresná diagnostika** (pozostáva z pomôcok a postupov pre interaktívnu analýzu dát, modelu a metódy, ktoré predstavujú tzv. **regresný triplet**), **lineárna regresia a kalibrácia**.

#### 1.3.1 Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy

Pre vyššie uvedené zadanie bol navrhnutý model v tvare  $y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x$ , pričom  $x$  je koncentrácia a  $y$  je plocha píku analytu. Predbežná diagnostika dát sa previedla pomocou programu QC Expert ver.2.5.

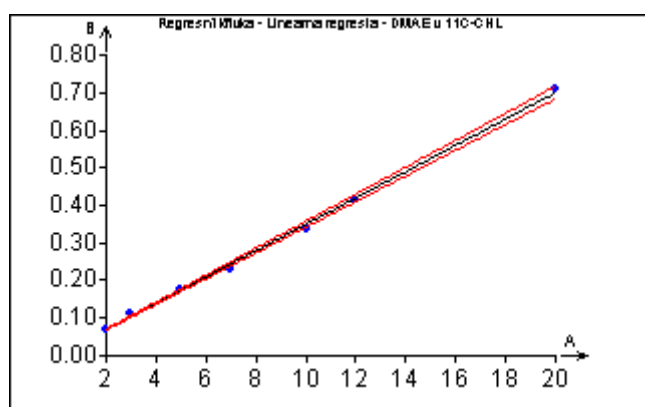
Hladina významnosti : 0,05  
Kvantil t(1-alfa/2,n-m) : 2,57058183561494  
Kvantil F(1-alfa,m,n-m) : 6,6078909735935  
Absolutní člen : Ano

Počet platných řádků : 7  
 Počet parametrů : 2  
 Metoda : Nejmenší čtverce  
 Transformace : Bez transformace

Tab. 2: Odhady parametrů pro model s absolutním členem

Parameter	Odhad	Odhad. smer. odchylky	Záver	Pravdepodobnosť	Dolná medza	Horná medza
$\beta_0$	- 0,00506	0,00631	Nevýznamný	0,4591	- 0,02128	0,01116
$\beta_1$	0,03541	0,00062	Významný	3,0512E-008	0,03383	0,03700

Úsek  $\beta_0$  (absolutný člen) je štatisticky nevýznamný (nulový), testom vyhodnotený interval spoľahlivosti zahŕňa 0. Smernica  $\beta_1$  je štatisticky významná, nie je jednotková.



Graf 1: Regresná krivka pre DMAE.

Konfidenčný pás (vymedzený červenými krivkami) je veľmi úzky, dáta vykazujú silnú linearitu.

### 1.3.2 Analýza reziduí a diagnostika vplyvných bodov

#### *Analýza klasických reziduí*

Reziduálny súčet čtverců : 0,0004456925428  
 Průměr absolutních reziduí : 0,007092210968  
 Reziduální směř. odchylka : 0,009441319217  
 Reziduální rozptyl : 8,913850856E-005  
 Šikmost reziduí : 0,2132594916  
 Špičatost reziduí : 1,611875081

Analýza klasických reziduí poukazuje na nekonštantnosť rozptylov. Odhad šikmosti a špičatosti približne indikuje Gaussovo normálne rozdelenie.

#### *Analýza ostatných reziduí*

Diagonálne prvky: bod 7 - extrém

Cookova vzdialenosť: bod 7 - extrém  
 Atkinsonova vzdialenosť: bod 7 - extrém  
 Vplyv na predikciu: bod 7 - extrém

#### *Grafy vplyvných bodov*

Tieto grafy indikujú prítomnosť vplyvných bodov a extrémov.

Graf predikovaných reziduí: bod 7 – odľahlý bod  
 Pregibonov graf: bod 7 - podozrivý bod  
 Wiliamsonov graf: bod 7 – extrém  
 McCulloh-Meeterov graf: body 2,3,4, 5 – podozrivé body  
 bod 7 - extrém  
 L-R graf: bod 7 - podozrivý bod

#### *Indexové grafy*

Upozorňujú na podozrivé body a kvantifikujú veľkosť ich vplyvu.

Andrewsov indexový graf: bod 7 - podozrivý bod  
 Graf normalizovaných reziduí: body 4, 5, 7 – vplyvné body  
 Graf prvkov H projekčnej matice: bod 7 - podozrivý bod

#### *Rankitové grafy*

Okrem normality rozdelenia rezduí zobrazujú aj vplyvné body.

Graf normalizovaných reziduí: body 4,5 - podozrivé body  
 Andrewsov graf: bod 7 - extrém  
 Graf predikovaných reziduí: bod 7 – odľahlý bod  
 Graf Jack-Knife reziduí: body 4, 5, 7 – vplyvné body

Tab. 3: Odhady parametrov pre model s absolútnym členom a po vylúčení bodu 7.

Parameter	Odhad	Odhad. smer. odchýlky	Záver	Pravdepodobnosť	Dolná medza	Horná medza
$\beta_0$	0,0024559	0,00643334	Nevýznamný	0,722	-0,01541	0,02032
$\beta_1$	0,0340581	0,0008662	Významný	2,499E-006	0,03165	0,03646

Tab. 4: Štatistické charakteristiky modelu – ich porovnanie pre model s a bez absolútneho člena.

	Pôvodný model s abs. členom	Bez abs. člena	Model s abs. členom a bez bodu č.7
<b>RSC</b>	0,0004456925428	0,0005029781122	0,000232572043
<b>S<sup>2</sup>(e)</b>	8,913850856E-005	8,382968536E-005	5,814301075E-005
<b>R</b>	0,999240584	0,9991429331	0,9987089466
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9984817446	0,9982866008	0,99741956
<b>R<sub>p</sub></b>	0,9909404951	0,9928893961	0,9875721537
<b>MEP</b>	0,0001903943037	0,0001493630174	9,363410084E-005
<b>AIC</b>	-63,63253951	-64,78611837	-56,94841993

Reziduálny súčet štvorcov, RSC: optimálna hodnota je čo najnižšia  
 Reziduálny rozptyl, S<sup>2</sup>(e): optimálna hodnota je čo najnižšia  
 Vícnásobný korelačný koeficient R : optimálna hodnota je čo najbližšie 1  
 Koeficient determinácie R<sup>2</sup> : optimálna hodnota je čo najbližšie 1  
 Predikovaný korelačný koeficient R<sub>p</sub> : optimálna hodnota je čo najbližšie 1  
 Stredná kvadratická chyba predikcie MEP : optimálna hodnota je čo najbližšie 0  
 Akaikeho informačný kritérium : optimálna hodnota je čo najzápornejšia (najnižšia)

Tab. 4 sumarizuje možné štatistické modely, kde je zahrnutý aj model bez absolútneho člena. Analýza reziduí a viaceré grafy - vplyvných bodov, rankitové a indexové indikujú bod 7 ako vplyvný, odľahlý až extrém. Predikčná schopnosť modelu je vysvetlená predikovaným korelačným koeficientom R<sub>p</sub>. Napriek tomu, že bod 7 vystupuje vo viacerých kritériách ako vplyvný a hodnoty RSC a S<sup>2</sup>(e) nedosahujú minimálne hodnoty v pôvodnom modeli, ale naopak nie sú významne a rádovo odlišné v porovnaní s ďalšími uvedenými modelmi, **prijíma sa pôvodný model a bod 7 sa nevyklučuje**. Stredná kvadratická chyba predikcie MEP nemá najnižšiu hodnotu a Akaikeho informačné kritérium, AIC vykazuje takmer porovnateľnú hodnotu pre všetky modely.

Napriek tomu, že na jeden parameter regresného modelu potrebujeme 5 bodov, t.j. pre model s dvoma parametrami (úsek a smernica) potrebujeme 10 bodov, na prevedenie kalibrácie použijeme 7 bodov čo je v súlade s uvedeným pravidlom. V podstate máme jeden parameter – smernicu, úsek je nevýznamný.

### 1.3.3 Testovanie regresného tripletu

Ide o testovanie základných predpokladov metódy najmenších štvorcov, za ktorých by metóda mala viesť k najlepším lineárnym odhadom regresných parametrov.

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F : 3288,253601

Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) : 6,607890974

Pravdepodobnosť : 3,051241323E-008

**Záver : Model je významný**

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC : 0,3332464765

**Záver : Model vykazuje multikolinearitu!**

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW : 0,004514344931

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

Pravděpodobnost : 0,9464313415

**Závěr : Rezidua vykazují homoskedasticitu.**

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB : 0,8108125539

Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,2)$  : 5,991464547

Pravděpodobnost : 0,6667058886

**Závěr : Rezidua mají normální rozdělení.**

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA : 0,5072171129

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

Pravděpodobnost : 0,4763460345

**Závěr : Autokorelace je nevýznamná**

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW : -1

Kritické hodnoty DW 0

**Závěr : Pozitivní autokorelace reziduí není prokázána.**

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg : 0,7882407814

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

Pravděpodobnost : 0,430555879

**Závěr : V reziduích není trend.**

Predpoklady pre použitie metódy najmenších štvorcov sú splnené. Model je významný, bez významnej autokorelácie, v dátach nie je trend a vykazujú homoskedasticitu.

## 1.4 Kalibrácia

### 1.4.1 Parametre kalibrácie

Tab 5: Odhady parametrov pre lineárny kalibračný model.

Parameter	Odhad	Odhad. smer. odchylky	Záver	Pravdepodobnosť	Dolná medza	Horná medza
$\beta_0$	- 0,00506	0,00631	Nevýznamný	0,4591	- 0,02128	0,01116
$\beta_1$	0,03541	0,00062	Významný	3,0512E-008	0,03383	0,03700

Kalibračná priamka má tvar  $y = 0,03541 (0,00062) * x$ .

### 1.4.2 Kalibračné medze

Pomocou programu ADSTAT sa zistili limity presnosti kalibračnej krivky (tab. 6):

	Plocha píku	Koncentrácia DMAE v $\mu\text{g/ml}$
Kritická úroveň	$y_c: 2,0318 \text{ E-02}$	$x_c: 5,2445 \text{ E-01}$
Limita detekcie	$y_d: 3,6140 \text{ E-02}$	$x_d: 9,8902 \text{ E-01}$
Medza stanoviteľnosti	$y_s: 9,9765 \text{ E-02}$	$x_s: 2,8572 \text{ E-00}$

### 1.4.3 Kalibračná tabuľka

V tab. 7 sú bodové a intervalové odhady koncentrácie DMAE vo vzorkách rádiofarmaka 11C-CHL vypočítané pomocou programu ADSTAT.

Nameraná hodnota-plocha píku	Priamy odhad koncentrácie DMAE, $\mu\text{g/ml}$	Naszodiho odhad	Dolná medza	Horná medza
$y_{\text{exp},i}$	$x_{\text{vyp},i}$	$x_{\text{vyp},i}$	$L_D x_{\text{vyp},i}$	$L_H x_{\text{vyp},i}$
0,077	2,3172	2,3190	1,5350	3,0993
0,087	2,5995	2,6013	1,8217	3,3774
0,112	3,3055	3,3070	2,5377	4,0733

### Záver

Priame bodové odhady a Naszodiho odhady koncentrácie DMAE sú v prípade vzoriek takmer totožné. Model spĺňa všetky predpoklady a nie je potrebná korekcia.



## 2. úloha: Nelineárna kalibrácia

### 2.1 Zadanie

Súčasťou kontroly kvality rádiofarmaka [11C]-cholínu, injekcia (11C-CHL) je stanovenie obsahu etanolu metódou plynovej chromatografie použitím metanolu ako vnútorného štandardu. Pripravilo sa 11 kalibračných roztokov a sledovala sa závislosť pomeru plôch píkov etanolu a metanolu ku pomeru ich koncentrácií. Nájdite najlepšiu rovnicu kalibračnej krivky a vyjadrite bodový a intervalový odhad pre koncentrácie etanolu v štyroch šaržiach 11C-CHL a určte limity ich presností uvedené pomery  $A(\text{EtOH})/A(\text{MeOH})$  v tab. 8.

### 2.2 Dáta

Tab. 8: Kalibračné hodnoty a hodnoty vzoriek pre DMAE (Kalibracia\_Darina\_Tothova.xls, darina5C.txt, darina5C, darina\_5\_sem\_praca.vts).

c(EtOH), g/l	c(MeOH), g/l	A(EtOH), $\mu\text{V}\cdot\text{s}$	A(MeOH), $\mu\text{V}\cdot\text{s}$	c(EtOH)/c(MeOH)	A(EtOH)/A(MeOH)
0,02512	1,5024	4410,09	220351,48	0,0167	0,020
0,05024	1,5024	13371,57	324271,05	0,0334	0,041
0,10048	1,5024	27488,61	318938,31	0,0669	0,086
0,1507	1,5024	43399,98	325040,18	0,1003	0,134
0,3014	1,5024	77008,49	302487,85	0,2006	0,255
0,5024	1,5024	125557,02	279798,59	0,3344	0,449
1,0048	1,5024	254296,82	283280,99	0,6688	0,898
1,2056	1,5024	284556,32	293452,64	0,8024	0,970
1,5072	1,5024	341671,06	308033,96	1,0032	1,109
2,0096	1,5024	396712,06	305034,26	1,3376	1,301
2,512	1,5024	403269,47	280775,56	1,6720	1,436
?	1,5024	10444,06	288567,98	?	0,036
?	1,5024	21726,32	300123,89	?	0,072
?	1,5024	112388,38	292547,33	?	0,384
?	1,5024	215357,7	302467,29	?	0,712

### 2.3 Riešenie

Na vyhodnotenie kalibračnej závislosti sa vzali stĺpce s modrým pozadím. Z uvedených pomerov je zrejme, že závislosť nebude lineárna a úlohou bude nájsť vhodný spline a optimálny počet uzlov. Hľadanie optimálnej kalibračnej závislosti znamená nájdenie najnižšej hodnoty limity detekcie  $x_D$ , smerodajnej odchýlky reziduí  $s_e$  a najnižšej hodnoty priemeru relatívnych reziduí  $M_e$ . Použili sa programy ADSTAT a QC Expert ver. 2.5.

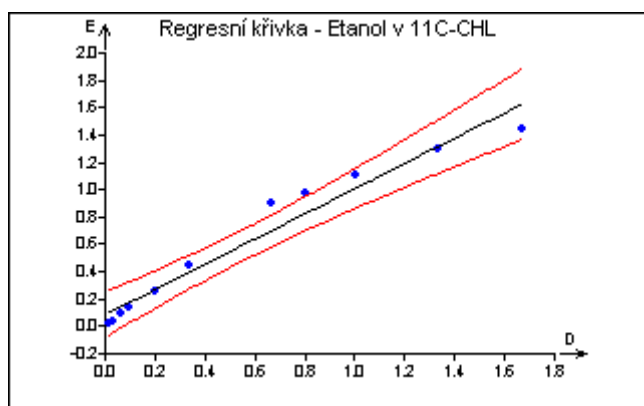
#### 2.3.1 Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy

Pre vyššie uvedené zadanie bol navrhnutý model v tvare  $y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x$ , pričom  $x$  je pomer koncentrácií analytu ku vnútornému štandardu a  $y$  je pomer ich plôch pík. Predbežná diagnostika dát sa previedla pomocou programu QC Expert ver.2.5.

Hladina významnosti : 0,05  
Kvantil  $t(1-\alpha/2, n-m)$  : 2,26215716279792  
Kvantil  $F(1-\alpha, m, n-m)$  : 5,11735502919795



### 2.3.4 Regresná diagnostika



Graf č. 2 navrhnutého regresného modelu.

Reziduální součet čtverců	0,1270067008
Průměr absolutních reziduí	0,08927614663
Reziduální směř. odchylka	0,1187933317
Reziduální rozptyl	0,01411185565
Priemer relat. reziduí, Mer (%)	70,625
Šikmost reziduí	0,05098175921
Špičatost reziduí	2,342097041

Graf č. 2 regresného modelu poukazuje na nie optimálne preloženie priamky kalibračnými bodmi.

### 2.3.5 Testovanie regresného tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F : 199,7783544

Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) : 5,117355029

Pravděpodobnost : 1,888385882E-007

**Závěr : Model je významný**

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC : 0,3271346838

**Závěr : Model je korektní.**

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW : 1,440352911

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

Pravděpodobnost : 0,2300822404

**Závěr : Rezidua vykazují homoskedasticitu.**

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB : 0,2918498642

Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,2)$  : 5,991464547

Pravděpodobnost : 0,8642225761

**Závěr : Rezidua mají normální rozdělení.**

Waldův test autokorelace  
 Hodnota kritéria WA : 3,325591462  
 Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,1)$  : 3,841458829  
 Pravděpodobnost : 0,06820947623  
**Závěr : Autokorelace je nevýznamná**

Durbin-Watsonův test autokorelace  
 Hodnota kritéria DW : -1  
 Kritické hodnoty DW 0  
**Závěr : Pozitivní autokorelace reziduí není prokázána.**

Znaménkový test reziduí  
 Hodnota kritéria Sg : 1,795331247  
 Kvantil  $N(1-\alpha/2)$  : 1,959963999  
 Pravděpodobnost : 0,07260093945  
**Závěr : V reziduích není trend.**

Z testovania regresného tripletu vyplýva, že reziduá vykazujú normalitu, homoskedasticitu a nie je v nich trend. Autokorelácia je nevýznamná. Napriek tomu, že model je významný, jeho graf poukazuje na nie optimálne preloženie. Daná kalibračná závislosť sa bude ďalej testovať použitím spline.

## 2.4 Kalibrácia

### 2.4.1 Lineárny spline

Tab.11: Parametre pre uzly lineárneho splinu.

Parametre	Lineárny spline			
	0	1	2	3
Uzlové body				
Limit detekcie, $x_D$	2,2943E-01	4,8448E-02	2,517E-02	4,6474E-02
Odhad smer. odch. reziduí, $\sigma_e$	1,1879E-01	2,7882E-02	1,4524E-02	2,4302E-02

### 2.4.2 Kvadratický spline

Tab.12: Parametre pre uzly kvadratického splinu.

Parametre	Kvadratický spline			
	0	1	2	3
Uzlové body				
Limit detekcie, $x_D$	3,7733E-02	3,9803E-02	4,575E-02	3,2381E-02
Odhad smer. odch. reziduí, $\sigma_e$	2,5417E-02	2,4966E-02	2,2557E-02	1,195E-02

### 2.4.3 Kubický spline

Tab.13: Parametre pre uzly kubického splinu.

Parametre	Kubický spline				
	0	1	2	3	4
Uzlové body					
Limit detekcie, $x_D$	4,3095 E-02	4,7549 E-02	4,2915 E-02	6,6844 E-02	1,9833 E-02
Odhad smer. odch. reziduí, $\sigma_e$	2,6132 E-02	2,1813 E-02	1,285 E-02	1,7019 E-02	4,4876 E-03

Z uvedených tabuliek a ich grafického zobrazenia získaného z dvoch programov ako najlepšie modely vystihujúce danú závislosť sú: - lineárny spline s dvoma uzlami  
- kvadratický spline bez uzlov.

Rozhodlo sa, že ako najlepší kalibračný model pre vyšetrované dáta sa použije kvadratický spline bez uzlov vzhľadom na jasnú kvadratickú závislosť, napriek nie najnižším hodnotám limity detekcie  $x_D$  a smerodajnej odchýlky reziduí  $s_e$ .

### 2.5 Kalibračná rovnica

Kalibračná rovnica má tvar:

$$y = -0,4232 \cdot x^2 + 1,5678 \cdot x - 0,01627$$

Kalibračné medze:

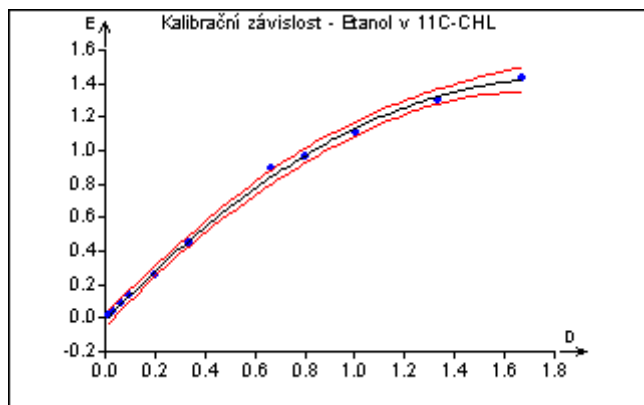
Kritická úroveň:  $y_c$ : 1,4412 E-02       $x_c$ : 1,9673 E-02

Detekčný limit:  $y_d$ : 4,2287 E-02       $x_d$ : 3,7733 E-02

### 2.6 Kalibračná tabuľka

Tab. 14: Použitie kalibračného modelu pre vzorky etanolu a jeho bodový a intervalový odhad.

Vzorka	Nameraná hodnota, $y_{\text{exp}}(i)/y_{\text{MeOH}}$	Inverzný odhad, $x_{\text{vyp}}(i)/x_{\text{MeOH}}$	Dolná medza, $L_D(\text{vyp})$	Horná medza, $L_H(\text{vyp})$
1	0,036	0,0336	1,4549 E-02	5,1256 E-02
2	0,072	0,0572	3,8986 E-02	7,4112 E-02
3	0,384	0,2759	2,6006 E-01	2,9203 E-01
4	0,712	0,5446	5,2067 E-01	5,6997 E-01



Graf 3. Grafické znázornenie kvadratického modelu.

### Záver

Na dátach pre zistenie obsahu etanolu vo vzorkách rádiofarmaka 11C-cholínu sa previedla štatistická a regresná analýza, ktorá poukázala na použitie nelineárnej kalibrácie. Pomocou porovnania viacerých splinov sa ukázal ako najvhodnejší model kvadratický spline bez uzlov. Pomocou neho sa zistili bodové a intervalové odhady pre pomer obsahu etanolu ku metanolu a limity jeho presnosti.

### 3. úloha: Rozlíšenie medzi lineárnou a nelineárnou kalibráciou

#### 3.1 Zadanie

Pre riešenie tohto zadania sa využili dáta z Kompendia úlohy K6.58 zo strany 653.

Dusičnanové a dusitanové anióny je možné stanoviť nepriamou polarografickou metódou z navýšenia píku redukcie uranylového katiónu. Preved'te rozlíšenie medzi lineárnym a nelineárnym kalibračným modelom nepriameho polarografického stanovenia dusičnanov. Vyšetrením regresného tripletu rozhodnite, či ide o lineárny alebo nelineárny kalibračný model a určte koncentráciu troch neznámych vzoriek s výškou píku  $h = 30, 70$  a  $90$  mm.

#### 3.2 Dáta

Tab. 15: Vstupné dáta z úlohy K6.58 z učebnice Kompendium (Kalibracia\_Darina\_Tothova.xls, K658.txt, K658, darina\_5\_sem\_praca.vts) .

Koncentrácia dusičnanov, mg/l	Výška píku v mm (po korekcii na objem)
62,000	19,90
124,000	40,50
186,000	59,90
248,000	75,10
310,000	89,00
372,000	100,20
434,000	111,70
?	30,00
?	70,00
?	90,00

#### 3.3 Riešenie

Uvedené dáta podrobíme regresnej a grafickej diagnostike a budeme hľadať vhodný kalibračný model. V prípade nevhodnosti lineárneho kalibračného modelu, zvolíme niektorú z nelineárných metód a pri jej posúdení budeme sledovať minimum limitu detekcie  $x_D$  a smerodajnej odchyľky rezíduí  $s_e$ . Pri riešení zadania použijeme výstupy z ADSTAT a QC Expert, ver. 2.5.

##### 3.3.1 Návrh modelu a stratégia regresnej analýzy

Pre vyššie uvedené zadanie bol navrhnutý model v tvare  $y = \beta_0 + \beta_1 * x$ , pričom  $x$  je koncentrácia dusičnanov a  $y$  je výška polarografického píku. Predbežná diagnostika dát sa previedla pomocou programu QC Expert ver.2.5.

Hladina významnosti : 0,05  
Kvantil  $t(1-\alpha/2, n-m)$  : 2,57058183561494  
Kvantil  $F(1-\alpha, m, n-m)$  : 6,6078909735935  
Absolutní člen : Ano  
Počet platných rádků : 7

Počet parametrov : 2  
 Metoda : Najmenší čtverce  
 Sloupce pro výpočet : H  
 Abs  
 G  
 Transformace : Bez transformace

### 3.3.2 Odhady parametrov a testy významnosti

Klasickou metódou najmensších štvorcov sa vyhodnotili odhady parametrov  $\beta_0$  a  $\beta_1$ .

Tab. 16: Odhady parametrov pre model s absolútnym členom

Parameter	Odhad	Odhad. smer. odchylky	Záver	Pravdepodobnosť	Dolná medza	Horná medza
$\beta_0$	10,3429	3,7225	Významný	0,03897	0,7740	19,9117
$\beta_1$	0,2442	0,0134	Významný	9,23392 E-006	0,2097	0,2787

Úsek  $\beta_0$  (absolútny člen) a smernica  $\beta_1$  sú štatisticky významné.

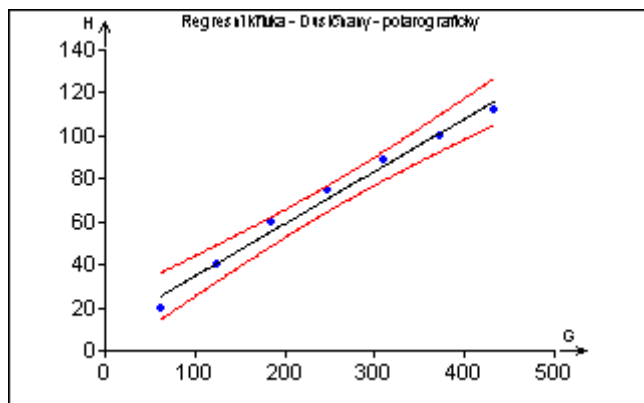
### 3.3.3 Základné štatistické charakteristiky

V nižšie uvedenej tabuľke č. 17 sú zhrnuté základné štatistické charakteristiky modelu.

Viacnásobný korelačný koeficient	0,9925274423
Koeficient determinácie, $R^2$	0,9851107237
Predikovaný korelačný koeficient, $R_p^2$	0,925553799
Stredná kvadratická chyba predikcie, MEP	35,31153697
Akaikeho informačné kritérium, AIC	22,40137384

### 3.3.4 Regresná diagnostika a analýza rezíduí

Graf č. 4: Grafické vyjadrenie regresného modelu pre zadanú závislosť.





Reziduální součet čtverců	96,99678571
Průměr absolutních reziduí	3,228571429
Reziduální směr. odchylka	4,404470132
Reziduální rozptyl	19,39935714
Šikmost reziduí	0,08041867363
Špičatost reziduí	1,568533977

Graf č. 4 regresného modelu poukazuje na nie optimálne preloženie priamky kalibračnými bodmi.

Analýza klasických reziduí a diagnostika vplyvných bodov poukazuje na bod 1 ako na vplyvný bod (grafické dáta nie sú poukázané). Bod 1 je indikovaný ako podozrivý len v dvoch kritériách. Nie je splnená podmienka, že bod musí byť indikovaný ako vplyvný aspoň v troch kritériách. Žiaden bod z daného súboru sa nevyklučuje.

### 3.3.5 Testovanie regresného tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F : 330,8121587  
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) : 6,607890974  
Pravděpodobnost : 9,233923281E-006  
**Závěr :** **Model je významný**

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC : 0,3230415058  
**Závěr :** **Model je korektní.**

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW : 0,06145875389  
Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,1)$  : 3,841458829  
Pravděpodobnost : 0,804205001  
**Závěr :** **Rezidua vykazují homoskedasticitu.**

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB : 0,6914744872  
Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,2)$  : 5,991464547  
Pravděpodobnost : 0,707698415  
**Závěr :** **Rezidua mají normální rozdělení.**

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA : 0,5576288235  
Kvantil  $\chi^2(1-\alpha,1)$  : 3,841458829  
Pravděpodobnost : 0,4552172063  
**Závěr :** **Autokorelace je nevýznamná**

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW : -1  
Kritické hodnoty DW : 0  
**Závěr :** **Pozitivní autokorelace reziduí není prokázána.**

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria  $S_g$  : 0,7882407814

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

Pravdepodobnosť : 0,430555879

**Záver :** **V reziduách není trend.**

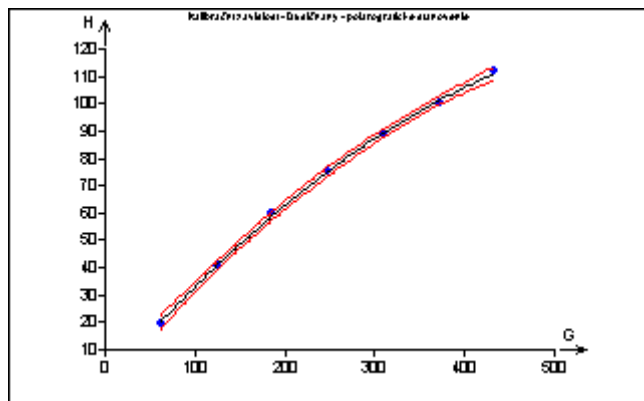
### 3.4 Kalibrácia

Pre dané dáta sa postupne vyhodnotil kvadratický a kubický spline – previedla sa regresia s rôznym zadávaním uzlov. Sledovať sa bude jednak grafické zobrazenie splinov a jednak sa budú porovnávať parametre - limit detekcie,  $x_D$  a odhad smerodajnej odchýlky reziduí  $\sigma_e$ .

#### 3.4.1 Kvadratický spline

Tab. 18: Parametre pre uzly kvadratického splinu.

Parametre	Kvadratický spline			
	0	1	2	3
Uzlové body	0	1	2	3
Limit detekcie, $x_D$	1,6879E+01	<b>1,8437E+01</b>	3,1979E+01	1,2072E+02
Odhad smer. odch. reziduí, $\sigma_e$	7,8853E-01	<b>5,6579E-01</b>	5,3295E-01	5,7431E-01
Priemer relat. hodnôt rezid., Mer	0,742	<b>0,599</b>	0,408	0,242



Graf 4: Grafické znázornenie kvadratického splinu s jedným uzlom.

#### 3.4.2 Kubický spline

Tab. 19: Parametre pre uzly kubického splinu.

Parametre	Kubický spline		
	0	1	2
Uzlové body	0	1	2
Limit detekcie, $x_D$	2,1259E+01	3,9008E+01	<b>2,1882E+02</b>
Odhad smer. odch. reziduí, $\sigma_e$	5,7363E-01	5,0149E-01	<b>5,8471E-01</b>
Priemer relat. hodnôt rezid., Mer	0,631	0,368	<b>0,250</b>

Sledované parametre - limita detekcie,  $x_D$ , odhad smerodajnej odchýlky reziduí  $\sigma_e$  a priemer relatívnych hodnôt reziduí, Mer nadobúdajú miminálne hodnoty pre kvadratický spline s

jedným uzlom. Grafické znázornenie (graf č. 4) rovnako potvrdzuje uvedený najoptimálnejší kalibračný model.

### 3.5 Kalibračná rovnica

Kalibračná rovnica má tvar:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c \quad \text{pre } k(i-1) < x \leq k(i)$$

Uzlový bod, k(i)	a	b	c
248	-3,7349E-04	4,1388E-01	-4,5286E+00

Kalibračné medze:

Kritická úroveň:  $y_c$ : -3,3039E-01     $x_c$ : 1,0238E+01

Detekčný limit:  $y_d$ : 2,9753E+00     $x_d$ : 1,8437E+01

### 3.6 Kalibračná tabuľka

Tab. 20: Použitie kalibračného modelu pre vzorky dusičnanov a ich bodový a intervalový odhad.

Vzorka	Nameraná hodnota, $y_{\text{exp}}(i)$	Inverzný odhad, $c_{\text{vyp}}(i)$	Dolná medza, $L_{\text{D(vyp)}}$	Horná medza, $L_{\text{H(vyp)}}$
1	30	90,88	87,32	94,27
2	70	226,28	221,66	230,76
3	90	316,66	310,37	323,07

### Záver

Pre polarografické stanovenie dusičnanov a dusitanov (nepriame stanovenie) sa previedlo štatistické testovanie pomocou regresného tripletu. Keďže lineárny model je nevyhovujúci, previedlo sa testovanie pomocou splinov. Najoptimálnejší model je kvadratický spline s jedným uzlom, jeho limita detekcie je dostatočne nízka pre bežné stanovenie dusičnanov vo vzorkách. Uvedený model sa aplikoval na výpočet koncentrácie v troch neznámych vzorkách. Ich bodové odhady a intervaly spoľahlivosti na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$  sú zhrnuté v tabuľke č. 20.