

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra analytické chemie
Licenční studium GALILEO

Kalibrace a limity její přesnosti

Seminární práce

Monika Vejpustková

leden 2016

OBSAH

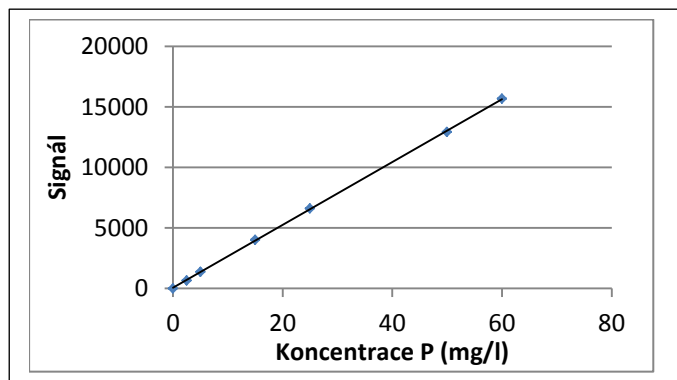
Úloha 1. Lineární kalibrace	3
1.1 Regresní diagnostika.....	3
1.2. Kalibrace	5
Úloha 2. Nelineární kalibrace	7
2.1 Regresní diagnostika.....	7
2.2 Kalibrace	11
Úloha 3. Rozlišení mezi lineární a nelineární kalibrací	13

Úloha 1. Lineární kalibrace

Zadání: Sestrojte kalibrační model koncentrace fosforu na základě proměření roztoků kalibračních standardů metodou optické emisní spektrometrie. Jaká je koncentrace fosforu ve vzorcích, které vykazovaly signál $y^* = 5856.2; 535.8; 12459.3$? U kalibrační závislosti vyčíslete bodový a intervalový odhad pro tyto tři neznámé koncentrace a současně vyčíslete i limity přesnosti.

Data: koncentrace fosforu x (mg/l), velikost signálu y (jednotky)

koncentrace x	signál y
0	3,7
2,500	668,5
5,000	1366,4
15,000	4016
25,000	6619,9
50,00	12919
60,00	15677,1
neznámý vzorek 1	5856,2
neznámý vzorek 2	535,8
neznámý vzorek 3	12459,3



Řešení (QC Expert)

1.1 Regresní diagnostika

- Návrh modelu: regresní přímka $y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x$
- Charakteristika proměnných

Proměnná	Průměr	Směr.Odch.	Kor.vs.Y	Významnost
koncentrace x	22,5	23,93567769	0,9999357852	6,346412285E-011

- Odhad parametrů

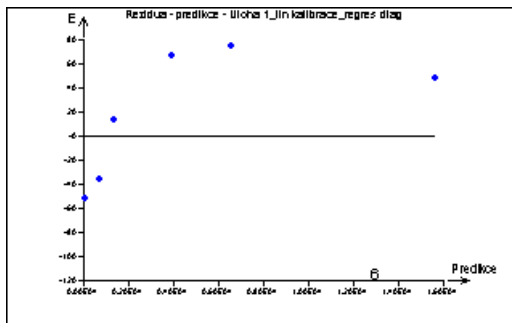
Proměnná	Odhad	Směr.odch.	Závěr	Pravděpod.	Spodní mez	Horní mez
Abs	55,7605	41,5451	Nevýznamný	0,2373	-51,0344	162,5555
konc. x	259,5573	1,3155	Významný	6,3464E-11	256,1756	262,9390

- Základní statistické charakteristiky

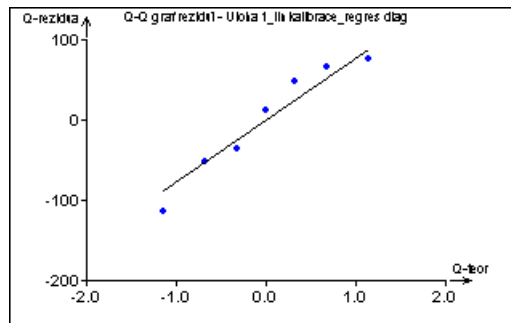
Vícenásobný korelační koeficient, R	0,9999357852
Koeficient determinace, R^2	0,9998715744
Předikovaný korelační koeficient, R_p^2	0,999431074
Střední kvadratická chyba predikce, MEP	9413,573825
Akaikeho inf. kritérium, AIC	62,48158447

▪ Regresní diagnostika

a) Rezidua

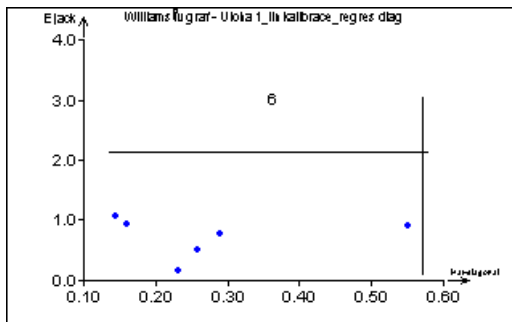


Graf residua vs. predikce

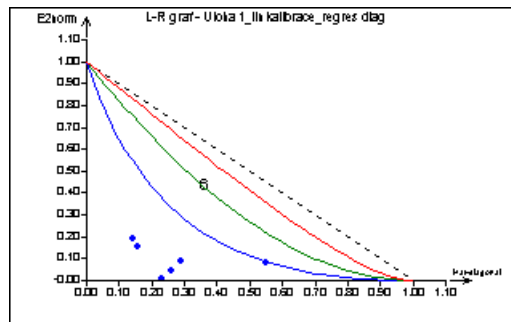


Q-Q graf residuí

b) Vlivné body

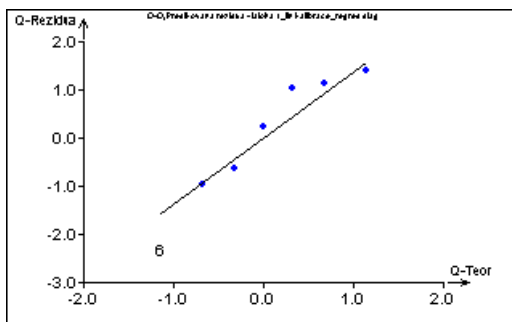


Williamsův graf



L-R graf

c) Rankitové grafy



Q-Q graf predikovaných reziduí

Diagnostické grafy indikují odlehlý bod v datech, a to bod č. 6.

Testy regresního tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F :	38928,05519
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) :	6,607890974
Pravděpodobnost :	6,346401862E-011
Závěr :	Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC :

0,3333127667

Závěr :**Model vykazuje multikolinearitu!**

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW :

0,4693903525

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

3,841458829

Pravděpodobnost :

0,4932677687

Závěr :**Rezidua vykazují homoskedasticitu.**

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB :

0,5872750413

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

5,991464547

Pravděpodobnost :

0,7455466877

Závěr :**Rezidua mají normální rozdělení.**

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA :

0,263973689

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

3,841458829

Pravděpodobnost :

0,6074032262

Závěr :**Autokorelace je nevýznamná**

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW :

-1

Kritické hodnoty DW

0

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

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg :

0,06063390626

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

1,959963999

Pravděpodobnost :

0,9516507699

Závěr :**V reziduích není trend.**

Výsledky testů ukazují, že předpoklady MNČ jsou splněny. Multikolinearita u jednorozměrného modelu nemá smysl.

1.2. Kalibrace

Pro kalibraci byla použita zpřesněná data s vyloučeným odlehlým bodem č. 6

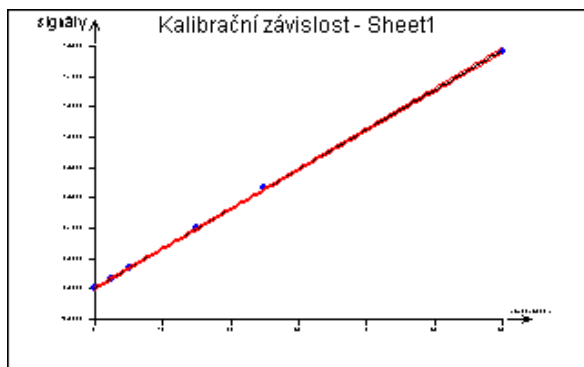
- Odhad parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.odch.	Závěr	Pravděpod.	Spodní mez	Horní mez
Abs	49,0783	25,8199	Nevýznamný	0,1301	-22,6093	120,7659
koncentrace x	260,9966	0,9448	Významný	1,0301E-09	258,3734	263,6197

Úsek kalibrační přímky je nevýznamný a lze jej položit rovný nule.

Rovnice kalibrační závislosti má tvar:

$$y = 260.9966(0.9448).x$$



Graf kalibrační závislosti signálu na koncentraci

Kalibrační meze (kritická **c**, detekce **d**, kvantifikace **q**)

Metoda	Yc	Yd	Yq	Xc	Xd	Xq	Yq 10sigma	Xq 10sigma
Metoda podle ISO 11843-2	93,4938	106,9256	137,9093	0,1702	0,2216	0,3403	---	---
Přímá metoda analytu	139,7568	228,9528	317,4322	0,3474	0,6892	1,0282	---	---
Přímá metoda signálu, IUPAC	139,7568	229,6838	318,8739	0,3474	0,6920	1,0337	---	---
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	139,0114	228,9445	317,4240	0,3446	0,6891	1,0282	---	---
Metoda K*Sigma z regrese	139,7568	230,4353	321,1138	0,3474	0,6948	1,0423	351,340	1,158
Metoda K*Sigma, ACS	192,3518	335,6252	478,8987	0,5489	1,0979	1,6468	526,656	1,646

Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	22,24980169	21,9824074	22,51859697	5856,2
2	1,864858636	1,529855321	2,194672448	535,8
3	47,54936893	47,09502714	48,01329054	12459,3

Závěr: Byl vyčíslen bodový a intervalový odhad pro tři neznámé koncentrace (viz kalibrační tabulka). Všechny určené koncentrace se pohybují nad mezí detekce a lze je tedy pokládat za spolehlivé.

Úloha 2. Nelineární kalibrace

Zadání: Sestrojte kalibrační model celkového obsahu uhlíku na základě proměření různých navážek standardu spalovací metodou. Jaký je obsah uhlíku ve vzorcích, pro které byly zjištěny tyto plochy píků $y^* = 2859; 75535; 112459$? U kalibrační závislosti vyčíslete bodový a intervalový odhad pro tyto tři neznámé koncentrace a současně vyčíslete i limity přesnosti.

Data: navážka (mg), absolutní obsah uhlíku (mg) x , plocha píku y (jednotky)

navážka (mg)	C (mg)	Plocha píku (C)
0,480	0,226876	485
0,569	0,276846	567
0,967	0	-909
1,580	0,758174	1385
3,074	1,474697	2676
4,954	2,377918	4330
5,991	2,874866	5200
7,930	3,845197	7008
10,10	4,840884	8816
12,12	5,800517	10557
15,16	7,243437	13172
20,72	9,933854	18039
25,02	11,98613	21744
30,34	14,57246	26404
35,05	16,84591	30492
40,78	19,59712	35429
45,36	21,76187	39306
51,36	24,68283	44527
61,03	29,3004	52757
80,99	38,84577	69683
99,49	47,74796	85370
119,80	57,36523	102219
140,10	67,20893	119368
	neznámý vzorek 1	2859
	neznámý vzorek 2	75535
	neznámý vzorek 3	112459

Řešení (QC Expert)

2.1 Regresní diagnostika

- Návrh modelu: regresní přímka $y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x$

- Statistické charakteristiky regrese pro různé stupně polynomu

Stupeň polynomu	1	2	3
Charakteristiky			
Vícenásobný korelační koeficient, R	0,9999534362	0,9999849588	0,9999858665
Koeficient determinace, R^2	0,9999068747	0,9999699178	0,9999717331
Predikovaný korelační koeficient, R_p^2	0,9997440673	0,9999200963	0,9999158246
Sřední kvadratická chyba predikce, MEP	145110,7601	45302,44733	47724,3959
Akaikeho inf. kritérium, AIC	270,0494498	246,0591359	246,627561

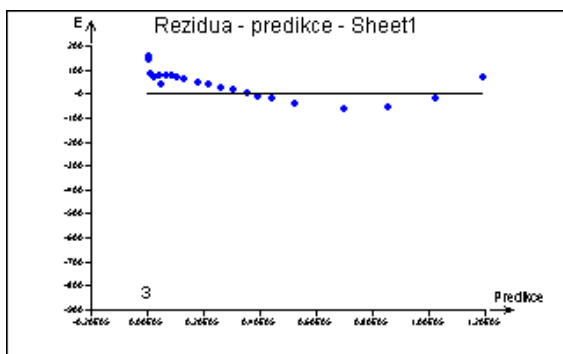
- Významnost parametrů regresní křivky

Stupeň polynomu	1	2	3
Parametr			
Abs. člen	Nevýznamný	Nevýznamný	Nevýznamný
x	Významný	Významný	Významný
x^2		Významný	Významný
x^3			Nevýznamný

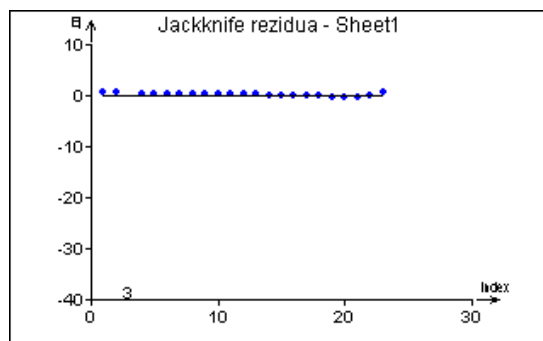
Jako nejlepší model se jeví polynom 2. stupně, který má minimální MEP i AIC a parametry pro x a x^2 jsou významné.

- Regresní diagnostika

a) Rezidua

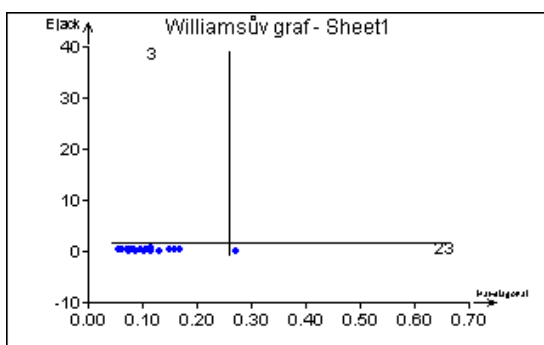


Graf residua vs. predikce

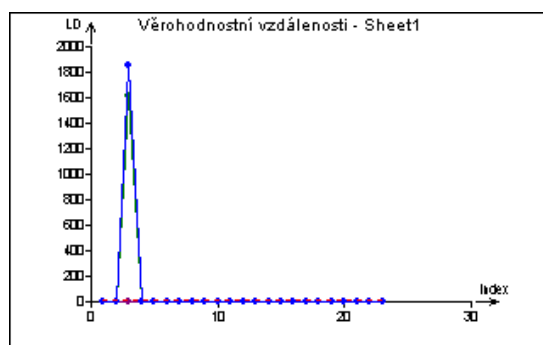


Graf Jack-Knife residuů

b) Vlivné body

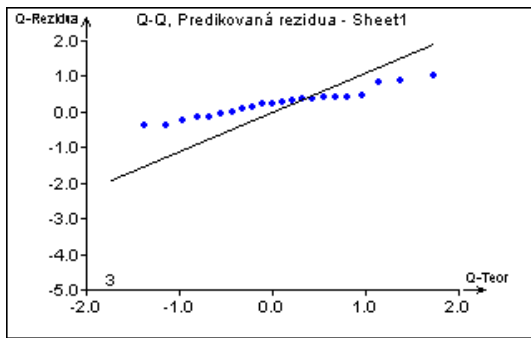


Williamsův graf

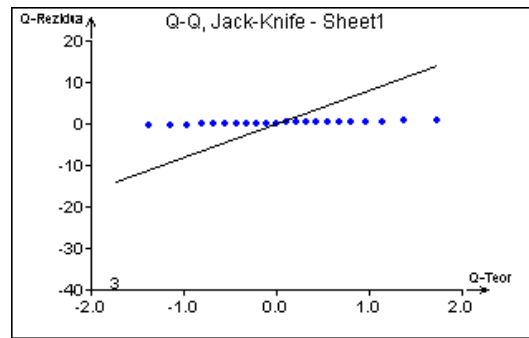


Graf věrohodnostních vzdáleností

c) Rankitové grafy



Q-Q graf predikovaných reziduí



Q-Q graf Jack-Knife reziduí

Všechny diagnostické grafy se shodují, že odlehlým bodem v datech je bod 3.

Testy regresního tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F :	332412,8398
Kvantil F (1-alfa, m-1, n-m) :	3,492828477
Pravděpodobnost :	6,068641009E-046
Závěr :	Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC :	0,8759969442
Závěr :	Model je nekorektní!

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW :	6,157694955
Kvantil $\chi^2(1-\text{alfa}, 1)$:	3,841458829
Pravděpodobnost :	0,01308416058
Závěr :	Rezidua vykazují heteroskedasticitu!

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB :	255,923427
Kvantil $\chi^2(1-\text{alfa}, 2)$:	5,991464547
Pravděpodobnost :	0
Závěr :	Rezidua nemají normální rozdělení!

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA :	0,4635686894
Kvantil $\chi^2(1-\text{alfa}, 1)$:	3,841458829
Pravděpodobnost :	0,4959608473
Závěr :	Autokorelace je nevýznamná

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW :	-1
Kritické hodnoty DW	1,08
Závěr :	Rezidua nejsou autokorelována

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg :	2,663645038
Kvantil $N(1-\alpha/2)$:	1,959963999
Pravděpodobnost :	0,007729908124
Závěr :	V reziduích je trend!

Výsledky testů ukazují, že předpoklady MNČ nejsou splněny.

Konstrukce zpřesněného modelu – polynom 2.stupně (bez bodu 3)

- Odhad parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.odch.	Závěr	Pravděpod.	Spodní mez	Horní mez
Abs	28,8117	8,4043	Významný	0,0028	11,2213	46,4021
x	1818,3832	0,8494	Významný	0	1816,6054	1820,1610
x^2	-0,6407	0,0137	Významný	0	-0,6694	-0,6120

- Základní statistické charakteristiky

Vícenásobný korelační koeficient, R	0,9999998022
Koeficient determinace, R^2	0,9999996044
Predikovaný korelační koeficient, R_p^2	0,9999987079
Střední kvadratická chyba predikce, MEP	735,7817637
Akaikeho inf. kritérium, AIC	140,4322794

Zpřesněný model má lepší parametry než původní model – výrazně poklesla MEP i AIC, všechny parametry jsou významné.

Testy regresního tripletu

Fisher-Snedecorův test významnosti modelu

Hodnota kritéria F :	24012711,17
Kvantil F (1- α , m-1, n-m) :	3,521893261
Pravděpodobnost :	1,493417529E-061
Závěr :	Model je významný

Scottovo kritérium multikolinearity

Hodnota kritéria SC :	0,8803198889
Závěr :	Model je nekorektní!

Cook-Weisbergův test heteroskedasticity

Hodnota kritéria CW :	1,390267062
Kvantil $\chi^2(1-\alpha, 1)$:	3,841458829
Pravděpodobnost :	0,2383600045
Závěr :	Rezidua vykazují homoskedasticitu.

Jarque-Berrův test normality

Hodnota kritéria JB :	0,3169343757
Kvantil $\chi^2(1-\alpha, 2)$:	5,991464547
Pravděpodobnost :	0,8534509669

Závěr : Residua mají normální rozdělení.

Waldův test autokorelace

Hodnota kritéria WA : 4,281391368

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

Pravděpodobnost : 0,03853179434

Závěr : Autokorelace je významná

Durbin-Watsonův test autokorelace

Hodnota kritéria DW : -1

Kritické hodnoty DW 1,05

Závěr : Residua jsou pozitivně autokorelována!

Znaménkový test reziduí

Hodnota kritéria Sg : 2,824846752

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

Pravděpodobnost : 0,004730323419

Závěr : V reziduích je trend!

Po zpřesnění modelu došlo ke zlepšení ve výsledku u testu heteroskedasticity a normality. Naproti tomu testy regresního tripletu indikují, že v reziduích je autokorelace a trend. Multikolinearita je pro polynomy typická.

2.2 Kalibrace

Pro kalibraci byla použita zpřesněná data s vyloučeným odlehlým bodem č. 3 a jako vhodný model pro kalibrační křivku byl zvolen polynom 2. stupně.

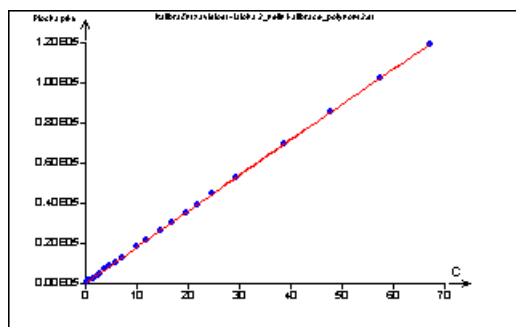
- Odhad parametrů

Proměnná	Odhad	Směr.odch.	Závěr	Spodní mez	Horní mez
Abs	28,8117	8,4043	Významný	11,2213	46,4021
x	1818,3832	0,8494	Významný	1816,6054	1820,1610
x^2	-0,6407	0,0137	Významný	-0,6694	-0,6120

Všechny regresní parametry vychází jako statisticky významné.

Rovnice kalibrační závislosti má tvar:

$$y = 28,8117(8,4043) + 1818,3832 (0,8494).x - 0,6407(0,0137).x^2$$



Graf kalibrační závislosti signálu na koncentraci

Kalibrační meze (kritická c , detekce d , kvantifikace q)

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	41,2180	43,8390	53,6244	0,0068	0,0083	0,0137	---	---
Přímá metoda analytu	54,7963	80,7252	106,626	0,0143	0,0285	0,0428	---	---
Přímá metoda signálu, IUPAC	54,7963	80,7530	106,681	0,0143	0,0286	0,0428	---	---
Kombinovaná metoda Ebel,Kamm	54,7684	80,7251	106,626	0,0142	0,0285	0,0427	---	---
Metoda $K \cdot \sigma$ z regrese	54,7963	80,7809	106,765	0,0142	0,0285	0,0428	115,4271	0,04763
Metoda $K \cdot \sigma$, ACS	73,5802	118,348	163,117	0,0246	0,0492	0,0738	257,2270	0,07386

Kalibrační tabulka

Číslo vzorku	Zpětný odhad	Spodní mez	Horní mez	Naměřené hodnoty
1	1,557285684	1,544526069	1,570021928	2859
2	42,14979096	42,13363961	42,16594251	75535
3	63,23885633	63,21153578	63,26624735	112459

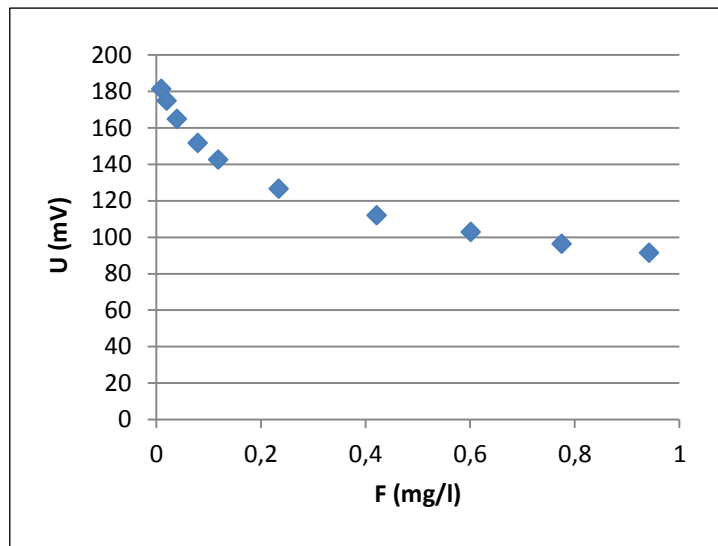
Závěr: Jako vhodný model pro kalibrační křivku byl zvolen polynom 2. stupně. Byl vyčíslen bodový a intervalový odhad pro tři neznámé koncentrace (viz kalibrační tabulka). Všechny určené koncentrace se pohybují nad mezí detekce a lze je tedy pokládat za spolehlivé.

Úloha 3. Rozlišení mezi lineární a nelineární kalibrací

Zadání: Pro stanovení fluoridů v rostlinném materiálu iontově selektivní elektrodou byla zjištěna experimentální závislost naměřeného potenciálu U (mV) na koncentraci fluoridových iontů F^- (mg/l). U této kalibrační křivky rozhodněte o počtu uzlových bodů, typu splinové závislosti. Vypočítejte bodový a intervalový odhad koncentrace pro tři neznámé vzorky y^* (mV): 101,9; 121,1; 155,0. Vyčíslete limity přesnosti.

Data: koncentrace fluoridových iontů F^- x (mg/l), potenciál y (mV)

F^- (mg/l)	U (mV)
0,0100	181,3
0,0200	174,9
0,0398	164,9
0,0794	151,7
0,1186	142,5
0,2344	126,5
0,4215	111,9
0,6015	102,9
0,7749	96,4
0,9420	91,4
neznámý vzorek 1	101,9
neznámý vzorek 2	121,1
neznámý vzorek 3	155,0



Řešení ADSTAT

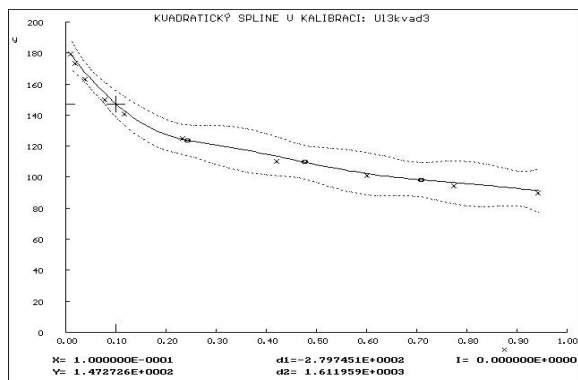
Z vizuálního posouzení grafu s vnesenými experimentálními body je patrné, že se jedná o nelineární závislost a bude zde výhodné využít některý typ splinové závislosti.

Vhodnost použitého modelu lze posoudit jak z grafického zobrazení kalibrace, tak pomocí odhadu směrodatné odchylky reziduí $s(e)$.

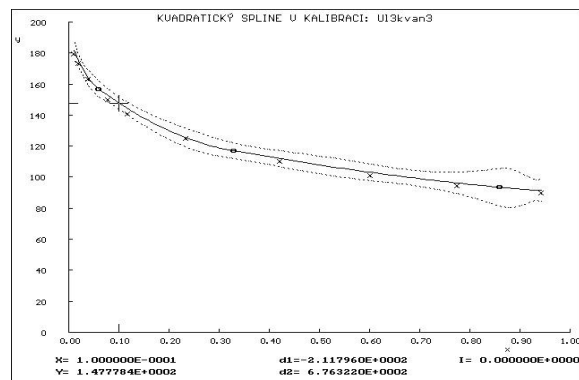
- Porovnání směrodatné odchylky reziduí $s(e)$ u různých typů splinových závislostí

Model	$s(e)$	x_d
Přímka	12.873	-
Lineární spline 1 uzel	8.3634	-
Lineární spline 2 uzly	6.1416	-
Lineární spline 3 uzly	5.7785	-
Kvadratický spline 1 uzel	4.5543	-
Kvadratický spline 2 uzly	3.1358	-
Kvadratický spline 3 uzly	2.2772	-
Kvadratický spline pevný počet bodů mezi uzly 3	1.1649	-
Kvadratický spline pevný počet bodů mezi uzly 2	0.5169	-
Kubický spline 1 uzel	2.4832	-0.0674
Kubický spline 2 uzly	1.5669	-
Kubický spline 3 uzly	1.0210	-0.0445
Kubický spline pevný počet bodů mezi uzly 3	0.7418	-
Kubický spline pevný počet bodů mezi uzly 2	0.4198	-

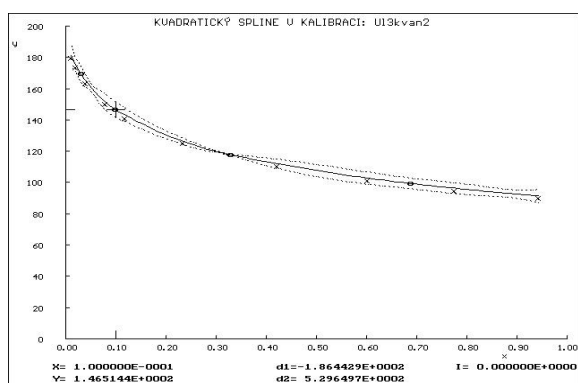
- Kalibrační křivky pro modely s $s(e) < 3$



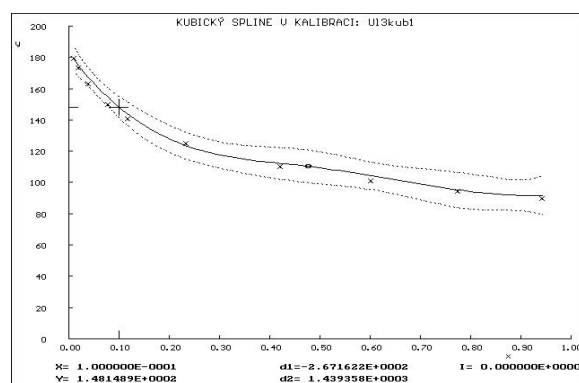
Kvadratický spline - 3 uzly



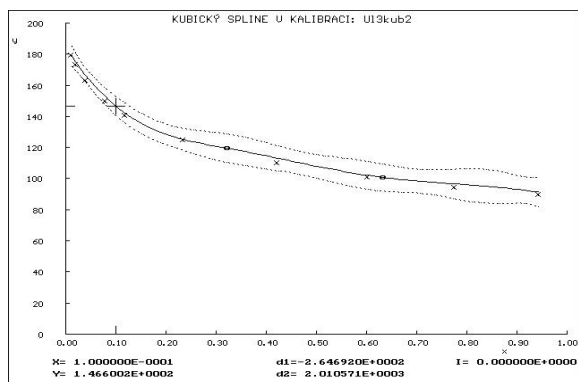
Kvadratický spline-pevný počet bodů mezi uzly 3



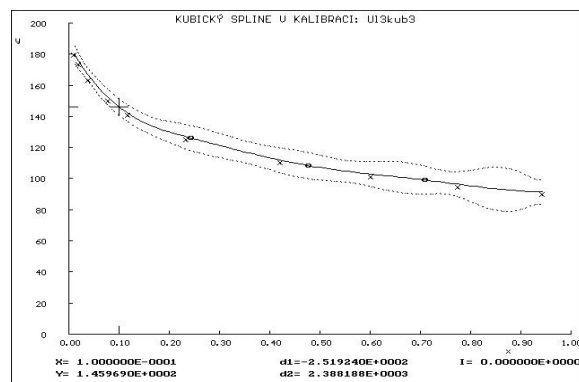
Kvadratický spline-pevný počet bodů mezi uzly 2



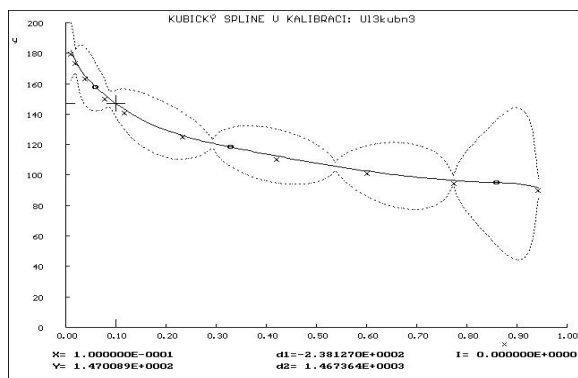
Kubický spline - 1 uzel



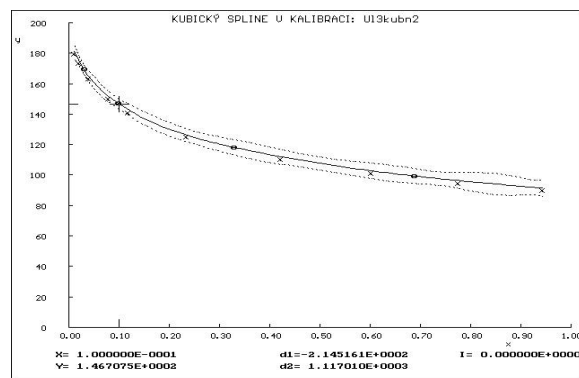
Kubický spline - 2 uzly



Kubický spline - 3 uzly



Kubický spline - pevný počet bodů mezi uzly 3



Kubický spline - pevný počet bodů mezi uzly 2

