



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 1 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

CASOS PRÁCTICOS DE CALIBRACIÓN UNIVARIANTE

ÍNDICE	Pag.
1.- Objetivo	2
2.- Fundamento de la técnica/metodología	2
3.- Instrumentación y protocolo de utilización	3
4.- Material y Reactivos	3
5.- Metodología experimental	3
6.- Registro de datos	3
7.- Obtención de resultados	3
8.- Elaboración del informe	4
9.- Prevención de riesgos	4
10.- Referencias	4
11.- Anexos	5

Elaborado por: Prof. Salvador Sagrado Dpto. de Química Analítica	Revisado por: Prof. José Ramón Torres Dpto. de Química Analítica	VºBº Prof. Amparo Salvador Directora del Máster
Fecha / firma:	Fecha / Firma:	Fecha / Firma:



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 2 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

1.- Objetivo

Aplicar los conocimientos sobre calibración univariante a la resolución de situaciones que puedan plantearse en el desarrollo de futuras actividades profesionales o investigadoras, seleccionando las metodologías y herramientas adecuadas, accediendo con criterio a la información necesaria para llevarlas a cabo, planificando en función de los recursos disponibles, tomando las decisiones oportunas, colaborando en equipo eficazmente y emitiendo un informe claro y conciso, argumentando las conclusiones obtenidas.

En particular se desarrollarán los contenidos que figuran en la Guía Docente del Máster, Modulo II, correspondientes a la parte 1 del programa cuyo título es Laboratorio de Calibración y tratamiento de datos y dentro de esta la sesión práctica dedicada a Casos prácticos de calibración univariante. Dichos contenidos son: Validación de modelos. Caracterización de las predicciones. Relaciones calibración-validación. Protocolos de calibración. Relaciones calibración-incertidumbre.

2.- Fundamento de la técnica/metodología

En Química Analítica, se entiende por calibración univariante de métodos establecer la relación entre una señal (voltios, amperios...) de un equipo de medida y la concentración de un analito (en ciertos casos la cantidad), conocida, empleando para ello habitualmente un conjunto de patrones (o materiales) de referencia.

Calibración es sinónimo de comparación. Por ejemplo, si denominamos **y** (vector y) al conjunto de señales asociada a cada uno de los patrones de calibración y **x** (vector x) a sus respectivas concentraciones, la calibración supone establecer la relación (modelo) entre las dos variables (estadística bivalente), donde habitualmente **y** es la variable dependiente y **x** la variable independiente, o simplificando $y = f(x)$.

Desde el punto de vista práctico, la calidad de la calibración univariante viene condicionada por la repetibilidad de la señal (**y**; entendida como la asociada a réplicas independientes del patrón a un nivel de concentración, nc), la veracidad de los valores asignados a la concentración de los patrones (**x**) y la validez de la comparación (modelo), que se establece vía validación. En este punto, el diseño de los patrones de calibración (niveles de concentración, réplicas...) influye en la calidad de los estadísticos. Desde el punto de vista operativo, la calidad viene condicionada por la frecuencia de la calibración (del método aplicado en rutina), que puede complementarse con tareas como la verificación de métodos.

Desde un punto de vista quimiométrico, la calibración univariante se fundamenta en la regresión, siempre que es posible, regresión lineal, para llevar a cabo la obtención (calibración) del modelo y posteriormente la utilización del modelo, para realizar predicciones de la concentración para nuevas muestras; aunque también puede emplearse para abordar test de comparación basados en regresión. El modelo más habitual, puede escribirse de forma matricial como: $y = Xb + e$, donde **X** esta formada por dos vectores, el primero conteniendo como valores 1 y el segundo el vector **x** de concentraciones, que conlleva un modelo de la forma: $y = b_0 + b_1 x$, donde los parámetros de ajuste b_0 y b_1 estimados (en principio empleando el algoritmo de mínimos cuadrados), se denominan ordenada en el origen y pendiente, respectivamente. Un análisis de los estadísticos asociados al modelo y a los parámetros, permiten evaluar la calidad del modelo.

El impacto de la calibración univariante de un método analítico, va más allá de las estimaciones de la concentración de las muestras cuya señal se interpola en el modelo (en el caso más habitual vía calibración externa). También tiene relación con características del método, ej. exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, intervalo dinámico, por los que la información de la calibración puede emplearse para tareas de validación de métodos. También influirá sobre la incertidumbre (global) del resultado de las muestras analizadas con el método calibrado, cuando este se aplique en la fase de rutina.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001
Rev1
31/10/2010
Pag. 3 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

3.- Instrumentación y protocolo de utilización

Para el desarrollo de esta sesión de prácticas tan sólo es necesario disponer de ordenadores (aula de informática), provistos de software ajustado a propósito para la introducción de datos, la estimación de parámetros y estadísticos de calibración y el análisis de resultados. Entre otros, se emplearán los programas comerciales STATGRAPHICS® y SPSS®. También se hará uso de algoritmos escritos en MATLAB®.

El protocolo general para abordar los casos prácticos es el siguiente:

- 1.- Objetivos del estudio
- 2.- Organizar y caracterizar datos
- 3.- Planteamiento
- 4.- Exploración de datos
- 5.- Estimación de parámetros y estadísticos
- 6.- Validación del modelo
- 7.- Predicciones y caracterización (si ha lugar)
- 8.- Empleo de los resultados de calibración (toma de decisiones, validación de métodos, comparación...)
- 9.- Informe (analítico, técnico, estadístico...; conclusiones, sugerencias)

4.- Material y Reactivos

Para el desarrollo de esta sesión de prácticas no es necesario disponer de ningún tipo de material de laboratorio ni reactivo. Los datos y otros ficheros se transferirán vía intranet o mediante memorias USB. Será necesario contar con una memoria USB por pareja.

5.- Metodología experimental

Para el desarrollo de esta sesión de prácticas no es necesario ningún tipo de metodología experimental. Cualquier información necesaria se obtiene de datos experimentales obtenidos en otras sesiones prácticas o mediante simulación.

6.- Registro de datos

El registro de datos se realizará en hojas de cálculo EXCEL®, en función del protocolo de calibración empleado. Los propios alumnos desarrollarán registros como parte de sus tareas no presenciales. A modo de ejemplo, un modelo de registro figura en el **Anexo I**.

7.- Obtención de resultados

Para el desarrollo de esta sesión de prácticas no es necesario ningún tipo de procedimiento general para la obtención de resultados, más allá del seguimiento del protocolo general del apartado 3. Cada caso particular, dependiendo del objetivo que se persiga, supondrá un tipo de resultados distinto.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001
Rev1
31/10/2010
Pag. 4 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

8.- Elaboración del informe

Se realizará un informe para algunos de los casos estudiados, que incluirá la exposición y justificación de los aspectos del protocolo del apartado 3 (ver **Anexos IV y V**; casos prácticos resueltos). Se empleará la nomenclatura introducida en el apartado 1, así como las variables del **Anexo II**. Al informe se adjuntará un anexo incluyendo cuanta información (tablas, gráficos, volcado de pantallas...) se considere oportuna, convenientemente identificada en la columna de comentarios.

9.- Prevención de riesgos

Para el desarrollo de esta sesión de prácticas no es necesario ningún tipo de adopción de prevención de riesgos particular. No se generan residuos químicos.

10.- Referencias

- [1] D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi y J. Smeyers-Verbeke. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A y B, Elsevier, Amsterdam, 1997.
- [2] J.C. Miller y J.N. Miller. Estadística y Quimiometría para Química Analítica, Pearson Education S.A. Madrid, 2002.
- [3] C. Molins-Legua, S. Meseguer-Lloret, Y. Moliner-Martínez y P. Campíns-Falcó. TRAC 2006 25, 282-290.
- [4] R. O. Kuehl, Diseño de experimentos. Principios para el diseño de análisis de investigaciones. 2ª ed. Thomson, México, 2001.
- [5] G. Ramis y M. C. García, Quimiometría, Síntesis, Madrid, 2001.
- [6] S. Sagrado, E. Bonet, M.J. Medina y Y. Martín, Manual Práctico de Calidad en los Laboratorios. Enfoque ISO 17025. AENOR 2005.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 5 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

11.- Anexos

Anexo I. Registro de datos inicial (Ejemplo)

Registro de calibración: RC001

Orden	nc	x	Y'	replicas	Media(y)	s(y)	s ² (y)	w	RSD(y)	x ²
1	1	1.2734	0.3581	1.1824	0.938	0.5042	0.25425	3.933	53.76	1
2	2	2.5398	1.8039	2.3321	2.225	0.3794	0.14395	6.947	17.05	4
3	3	3.9175	3.1477	2.7925	3.286	0.5751	0.33073	3.024	17.50	9
4	4	2.4382	3.2356	3.2963	2.990	0.4789	0.22931	4.361	16.02	16
5	5	4.772	5.6512	5.436	5.286	0.4583	0.21003	4.761	8.67	25
6	6	5.5477	6.8616	4.1246	5.511	1.3689	1.87379	0.534	24.84	36
7	7	8.4824	7.5676	6.4338	7.495	1.0262	1.05319	0.949	13.69	49
8	8	7.2178	7.7907	8.7542	7.921	0.7764	0.60285	1.659	9.80	64
9	9	10.277	9.4604	7.9718	9.237	1.1689	1.36643	0.732	12.66	81
10	10	12.212	8.2409	10.9143	10.456	2.0247	4.09924	0.244	19.36	100

No=n= 10

nc	x	y
1	1	1.2734
1	1	0.3581
1	1	1.1824
2	2	2.540
2	2	1.804
2	2	2.332
.	.	.
.	.	.
.	.	.

n=

(diseño expandido: todos los valores x_i, y_i)

Etapa 1: CALIBRACIÓN

$$b_0 = -0.187 \quad b_1 = 1.040$$

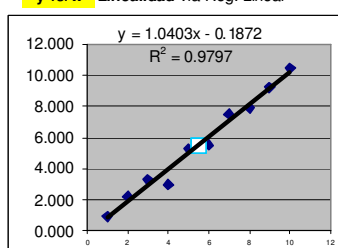
$$\text{Media} = \frac{x}{5.5000} \quad \frac{y}{5.5344} \quad (\text{centroide})$$

y_M (futuras muestras)

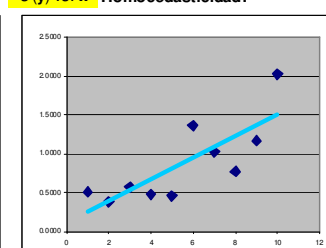
Etapa 2: PREDICCIÓN

y_M	x_M
5.5344	5.5000
5.5344	5.5000
5.5344	5.5000
Media	5.5344 5.5000

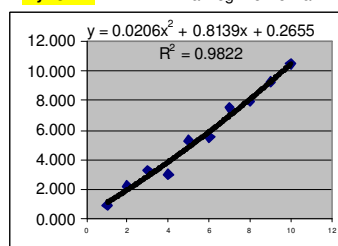
y vs. x Linealidad vía Reg. Lineal



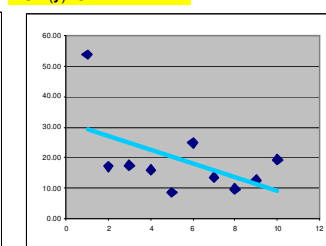
s(y) vs. x Homocedasticidad:



y vs. x Linealidad vía Reg. Polinomial



RSD(y) vs. x Homocedasticidad:



Protocolo: Sólo emplear celdas salmon, borrar las no ocupadas de resultados inclusive

ATENCIÓN: El bloqueo puede alterar los análisis

Bloquear/Desbloquear celdas de datos:

Seleccionar celdas/Menu:Formato/celdas/Proteger/Bloquear o Desbloquear

Proteger hoja (excepto celdas de datos desbloqueadas):

Menu:Herramientas/Proteger hoja

Desproteger:

Menu:Herramientas/Proteger hoja



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 6 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Anexo II. Algunas variables a emplear en los informes y abreviaturas ^a. Presentación: *Escalares* (en cursiva); **vectores** (en minúscula y negrita); **MARICES** (en mayúscula y negrita).

<i>Nr</i>	Número de réplicas (en 1 vector-serie ^a). Ej. Número de réplicas (independientes) para cada nc
<i>Ns</i>	Número de vectores-serie ^a en un estudio
<i>No</i>	Número de objetos
<i>Nv</i>	Número de variables ^b (distintos parámetros y/o magnitudes medidas sobre uno o varios objeto)
<i>Nf</i>	Número de factores ^c en un estudio (excluyendo la repetibilidad)
<i>Nfil.</i>	Número de filas en una matriz
<i>Ncol.</i>	Número de columnas en una matriz
<i>i</i>	Índice de fila
<i>j</i>	Índice de columna
<i>n</i>	Número de datos de un vector (excluyendo datos ausentes)
<i>N</i>	Número de datos en una matriz (excluyendo datos ausentes)
<i>NDa</i>	Número de datos ausentes
x	Variable independiente (vector predictor, ej. conc.)
y	Variable dependiente (vector respuesta, ej. señal)
e	Vector de residuales
<i>ŷ</i>	Vector respuesta estimado por el modelo
Orden	Vector de índices asociado a cualquier ordenamiento de los datos (ej. orden de preparación)
<i>Nc</i>	Número total de nc
<i>nc</i>	Índice de nc (desde 1 a <i>Nc</i>)
<i>y_M</i>	Señal de la muestra (a interpolar en el modelo)
<i>x_M</i> (x-est.)	Conc. estimada a partir de <i>y_M</i> (tras interpolar esta en el modelo)
<i>Nr'</i>	Número de réplicas con las que se estima <i>y_M</i>
<i>R</i>	Coefficiente de correlación (momento-producto)
<i>IC</i>	Intervalo de confianza (para un cierto nivel de confianza, <i>NC</i> , usualmente 95%)
<i>SC_{i1}</i>	Suma de términos cuadráticos (residuales al cuadrado; ANOVA del modelo de regresión lineal)
<i>SC_{i2}</i>	Suma de términos cuadráticos (residuales al cuadrado; ANOVA del modelo de regresión polinomial)
<i>MC_{res}</i>	media de términos cuadráticos residual (ANOVA del modelo de regresión polinomial)
<i>gl_{res}</i>	Grados de libertad residual (ANOVA del modelo de regresión polinomial)
<i>RSD(y)</i>	Precisión relativa de la señal (en términos de desviación estándar relativa en %). También se usa <i>CV</i> (= <i>RSD</i>)
<i>s(y)</i>	Precisión de la señal (en términos de desviación estándar)
<i>OM(x)</i>	Orden de magnitud del vector x (indicador de amplitud del intervalo de conc.; Nunca debería ser inferior a 0.5). Cálculo: si $\log(x_{\max}/x_{\min}) = \text{Número entero}$: $OM = \log(x_{\max}/x_{\min})$; de lo contrario: $OM' = \text{Número entero inferior del valor } \log(x_{\max}/x_{\min})$; $OM = OM' + ((x_{\max}/x_{\min})/10^{(1+OM')})$ [6]
<i>s_{bl}</i>	Desviación estándar del blanco
<i>s_e</i>	Desviación estándar residual
<i>nC</i>	Número de coeficientes del modelo (Ej. 2; <i>b₀</i> y <i>b₁</i> ; ordenada en el origen y pendiente del modelo lineal, respectivamente. Ej. 3; <i>b₀</i> , <i>b₁</i> y <i>b₂</i> , siendo <i>b₂</i> el coeficiente del término cuadrático x² del modelo polinomial)

^a Abreviaturas: conc. = concentración; nc = nivel de concentración. OLS = (Algoritmo) 'Ordinary least squares', mínimos cuadrados (ordinario). max. = máximo, min = mínimo. bl = blanco, *L_Q* = Límite de cuantificación. Vector-serie = Conjunto de datos replicados correspondientes a 1 objeto.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 7 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Anexo III. Resumen de criterios para validar modelos.

a) Algunos criterios ^a para evaluar modelos de regresión lineal ($y = b_0 + b_1 x$). Si hay réplicas-y: $y = \text{Media}(y)$, excepto cuando se indique.

Modelo	Cualitativo (problemas con el modelo)	Cuantitativo (rechazar el modelo)
Linealidad	$R > 0.99$, $R^2 > 0.99$ ó $R^2 > 0.995$ (ENAC)	$IC(b_2)$ (modelo polinomial) no incluye a 0
	Gráfico y vs. x (línea-modelo ajustada): Mal ajuste de los puntos a la línea ajustada (modelo)	Test F-parcial: (ISO, IUPAC): $F_{\text{parcial}} = \frac{SC_{\{2\}} - SC_{\{1\}}}{MC_{\text{res}\{2\}}}$ $> F_{0.05, 1, g/\text{res}\{2\}} (1\text{-cola})$
	● Gráfico e vs. \hat{y} (línea $e=0$): Curvatura o secuencia de e tipo: $-2, -1, 0, +1, +2, -3$	
Significación		$p(F) > 0.05$ (ANOVA-regresión) $IC(b_1)$ incluye a 0 ...(equivalente al anterior)
(Si hay réplicas-y) Fallo de ajuste		$p(F) < 0.05$ (ANOVA-Test Fallo de Ajuste en regresión).
Residuales (criterios que indican adecuación del Modelo)		
Independencia	Gráfico e vs. orden (Línea $e=0$) ^a : Rachas (ej: secuencia de e tipo $- - - - + + +$)	Test Durbin-Watson: $DW < 1.4$ (existe autocorrelación)
Normalidad	Gráfico e vs. \hat{y} (línea $e=0$): Distribución no aleatoria. Predominio de e_i alejados de 0 NOTA: Ya empleado para linealidad	Test de Kolmogorov-Smirnov : $p < 0.05$
(Si hay réplicas-y) Homocedasticidad	Gráfico $s(y)$ vs. x . Tendencia (ej. creciente con x) ... Ej. Registro EXCEL (RC001) ● Empleando las réplicas (y): Gráfico e vs x (línea $e=0$) ^a : Amplitud no cte (ej. creciente con x)	Test de Cochran: $p < 0.05$ (Heterocedasticidad) Alternativamente/adicionalmente: Test de Barlett, Levene ($p < 0.05$)

^a Sombreados aquellos aplicables directamente vía STATGRAPHICS®

Símbolos: + , positivo (>0); - , negativo (<0)

b) Algunos criterios para indicar anómalos en modelo de regresión lineal

Gráficos	Numéricos (ej. SPSS®)
Gráfico y vs. x (línea-modelo ajustada). Puntos alejados de la línea del modelo NOTA: Ya empleado para linealidad	- Residuales tipificados: $(e/s_e) > 2.5$ - Distancia de Cook: $DCook > 1$ - Leverage centrado: $h \gg (n-1)/n$ - Dfajuste tipificado: $DFFITS > 2/(nq/n)^{1/2}$ - Dfbetas tipificados*: $DFBETAS > 2/(n)^{1/2}$ (* para b_0 y b_1)
● Gráfico e vs. \hat{y} (Línea $e=0$): Puntos (e_i) alejados de la línea (respecto del resto) NOTA: Ya empleado para linealidad	

● Criterio orientativo recomendable. ^a Si el modelo es lineal, en general puede sustituirse por el gráfico e vs. \hat{y}

c) Protocolo rápido para la evaluación cualitativa/ decisiones razonablemente consistentes:

[1] Gráfico e vs. \hat{y} ; [2] Si no se aprecian anómalos ^a ni problemas de linealidad ^b [3] Si existen réplicas (Gráfico e vs. x o incluso e vs. \hat{y} , o $s(y)$ vs. x); [4] Si no se aprecia heterocedasticidad a x elevadas ^c [FIN] Regresión OK.

Problemas: ^a Evaluar/Eliminar; ^{b,c} Reducir el intervalo, con tal que $OM(x) > 0.5$; ^c considerar la regresión lineal ponderada.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 8 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

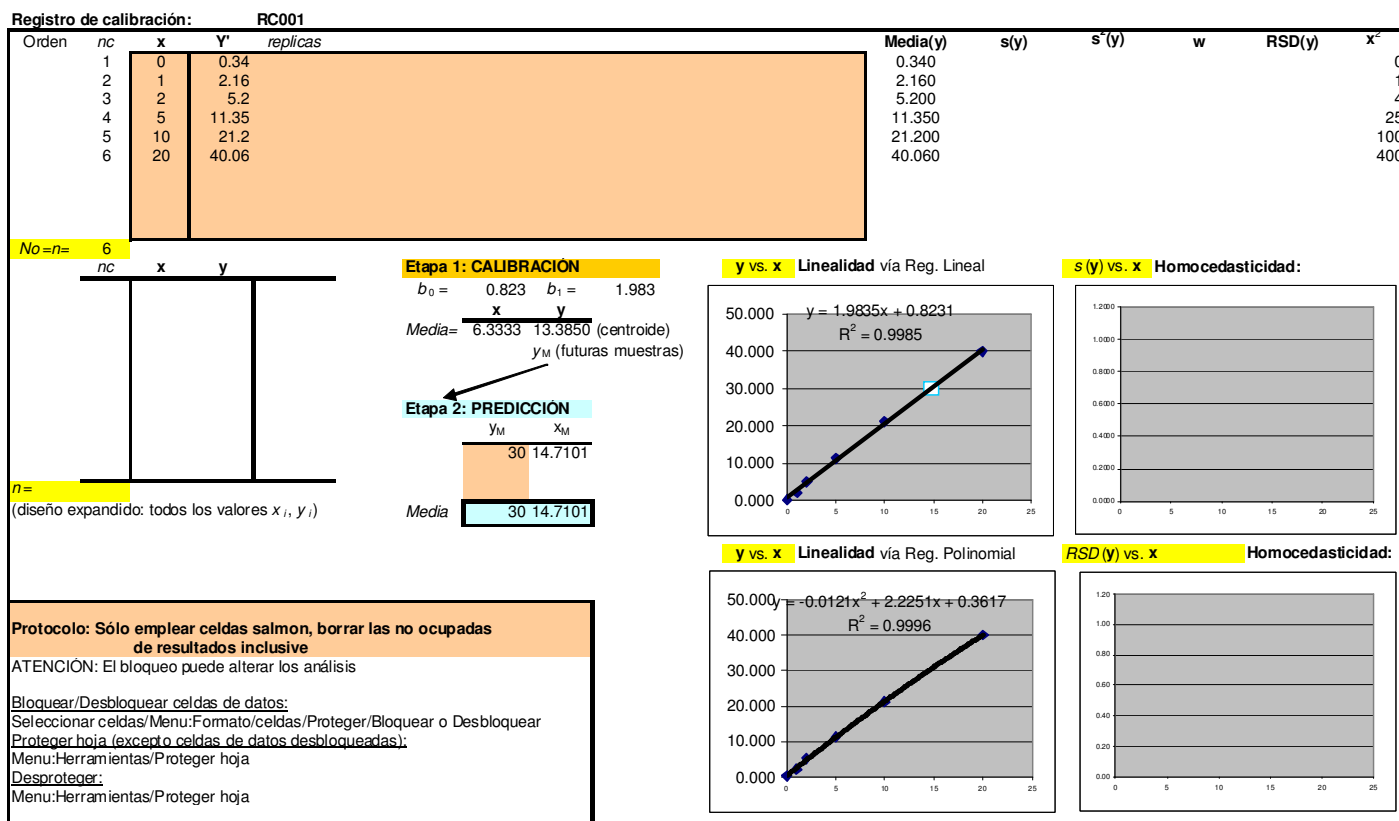
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Anexo IV. Caso práctico 1a (resuelto)

Análisis y validación preliminar de un modelo de calibración univariante, simulando la situación a emplear en la fase de rutina (sin réplicas) correspondiente a un método para determinar la concentración de tolueno en una muestra de agua potable o residual analizada mediante Cromatografía de gases (Purga y trampa). En principio no cabe esperar que las muestras contengan niveles apreciables de tolueno, con excepción de muestras contaminadas con vertidos industriales de disolventes.

Datos^a de calibración de un método instrumental (GC). El registro RC001 contiene la siguiente información útil: $x = \text{conc. de tolueno (ng.ml}^{-1}\text{)}$ correspondientes a patrones de calibración preparados fortificando muestras de agua (cuya concentración se asume despreciable, por debajo del límite de cuantificación prefijado en 0.05 ng.ml⁻¹) y **Media(y)** (en este caso coincide con la señal a la única réplica obtenida a cada nc). Otros estadísticos no pueden calcularse al no existir réplicas.

- Validar el modelo.
- Predecir y caracterizar la *conc.* de tolueno para una muestra cuya señal es igual a 30 (UA) si esta ha sido obtenida con 1, 3, 5 y 7 réplicas.



^a Adaptados de ref 6. Para este ejemplo se ha empleado como señal la **Media(y)** correspondiente al Caso práctico 1b. Esto permite comparar los resultados de los Casos prácticos 1a y 1b.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 9 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y
tratamiento de datosPROFESOR/ES: Salvador Sagrado Vives.
DEPARTAMENTO: Química Analítica

ALUMNO:

31/10/2010, Pag. 1 de

INFORME: Casos prácticos de calibración univariante (Sesión 1)

Caso práctico: CP1a

	INFORME	COMENTARIOS
1.- Objetivos del estudio	<p>Análisis y validación de un modelo preliminar de calibración de método para determinar Tolueno (concentración, ng.ml^{-1}) mediante CG (señal = Área de pico en UA). Existen 2 objetivos:</p> <ol style="list-style-type: none">Análisis de regresión lineal empleando los vectores Media(y) y x.Predecir la <i>conc.</i> de tolueno para una muestra cuya señal es igual a 30 (UA) si esta ha sido obtenida con 1, 3, 5 y 7 réplicas.	Datos adaptados de ref 6.
2.- Organizar y caracterizar datos	<p>Los datos figuran en el enunciado. Se trata de 2 vectores columna. Los datos corresponden en realidad a 2 variables (una independiente, x = conc. y otra dependiente, Media(y))</p> <p>Escalares que caracterizan el problema:</p> <ul style="list-style-type: none">$Nr = 1$ réplicas a cada nc$Nv = 2$ variables (<i>conc.</i> de tolueno y señal instrumental)$No = 6$ objetos (disoluciones patrón de tolueno)$Nf = 1$ factor (<i>conc.</i>; intra-columna)	<p>x = <i>conc.</i> de tolueno (ng.ml^{-1})</p> <p>Media-y = media de la señal áreas de pico (UA), a cada nc</p> <p>En este caso $n = No = 6$ (nc)</p> <p>x abarca el intervalo $1-20 \text{ ng.ml}^{-1}$; $OM(x) = 1.2 > 0.5$ (adecuado para regresión)</p>
3.- Planteamiento	<p>Se empleará el Registro RC001 (programado en EXCEL®) y STATGRAPHICS®.</p> <p>(a) Validación parcial del modelo</p> <ul style="list-style-type: none">Gráfico media(y) vs. x (Reg. Lineal y polinomial, $n = 6$)Gráfico e vs. y (Reg. Lineal, $n = 6$)Estadísticos de Reg. lineal ($n = 6$)Estadísticos de Reg. polinomial ($n = 6$) <p>(b) Interpolación de la señal 30 en el modelo para ($Nr' = 1, 3, 5, 7$)</p>	<p>Se emplean parte de los criterios del Anexo III</p> <p>Evaluación de linealidad (exploración gráfica)</p> <p>Evaluación de anómalos (exploración gráfica)</p> <p>Evaluación de estadísticos/test</p> <p>Evaluación de linealidad vía $IC(b_2)$</p>
4.- Exploración de datos	<ul style="list-style-type: none">En el registro RC001 se muestran los gráficos y vs. x para el modelo de regresión Media(y) vs. x ($n = 6$) ajustados empleando regresión lineal y polinomial. Se puede apreciar una ligera no-linealidad, aunque no parece importante (R^2 Polin. $\sim R^2$ lineal > 0.99; $b_2 \ll b_1$).En los cuadros CP1a-4-1a y CP1a-4-1b se muestran los gráficos y vs. x y e vs. y para el modelo de regresión (y) vs. x ($n = 6$). El gráfico (y) vs. x incluye una interpolación en el modelo del valor de y (señal) = 30 UA (superior al centroide; 13.385), lo que proporciona una valor de x (<i>conc.</i>) ~ 14.71 (por encima del centroide). El gráfico e vs. y sugiere una posible no-linealidad (los residuales extremos son negativos mientras que los centrales positivos). No se aprecian anómalos importantes (que destaquen respecto al resto)	<p>Ver Enunciado</p> <ul style="list-style-type: none">Convendrá verificar la posible no-linealidad <p>Ver Anexo al Informe</p> <ul style="list-style-type: none">Convendrá verificar la posible no-linealidad cuantitativamente



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001
Rev1
31/10/2010
Pag. 10 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

5.- Estimación de parámetros y estadísticos	El cuadro CP1a-5-1a muestra un análisis de regresión lineal. El cuadro 5-1b muestra un análisis de regresión polinomial lineal.	Ver Anexo al Informe Se resaltan parámetros indicados en el Anexo III
6.- Validación del modelo	El modelo es significativo ($p < 0.05$, $NC = 95\%$) y lineal ($IC(b_2)$ incluye a 0). La autocorrelación sugiere que la preparación de los patrones se haga en orden aleatorio.	Criterios del Anexo III
7.- Predicciones y caracterización	El cuadro CP1a-5-2 muestra la interpolación de la señal de la muestra (estimación de la concentración de la muestra y desviación estándar, para distintos valores de Nr'). Los resultados provisionales (redondeando) para una $y_M = 30$ UA) son: $Nr'=1$: x-est. 14.7 ± 1.1 ng.mL ⁻¹ $Nr'=3$: x-est. 14.7 ± 0.8 ng.mL ⁻¹ $Nr'=5$: x-est. 14.7 ± 0.7 ng.mL ⁻¹ $Nr'=7$: x-est. 14.7 ± 0.7 ng.mL ⁻¹	Ver Anexo al Informe
8.- Empleo de los resultados de calibración	No se realizan estudios en este sentido	
9.- Informe [CP1a]	(a) Salvo el aspecto de la independencia de los residuos, el modelo se puede considerar provisionalmente validado. (b) Las estimaciones sugieren una que no hay una sustancial mejora en la calidad del resultado más allá de $Nr' = 3$ réplicas. Para este nivel $RSD(\text{conc.}) = 100 \cdot 0.8 / 14.7 = 5.4 \%$ (NOTA: para $Nr' = 1$; $RSD(\text{conc.}) = 7.5\%$; aceptable en muchas situaciones/normativas en análisis rutinario)	No se ha podido evaluar la heterocedasticidad al no existir réplicas a cada nc. Hay que considerar que en caso de que existiera heterocedasticidad, el algoritmo de mínimos cuadrados no sería consistente (debiendo emplearse en ese caso regresión ponderada) Sugerencia: En la validación del método sería conveniente emplear réplicas.

Anexo al Informe

Cuadro CP1a-4-1a: **Media(y)** vs. **x** ($n = 6$; Reg. lineal). Interpolación de la señal (30 UA) para el caso $Nr' = 1$

Plot of Fitted Model

Media_y

x

30.0

14.7101 (13.6358;15.7845)

Cuadro CP1a-5-1a: Resumen de análisis de Reg. lineal

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	1138.27	1	1138.27	2722.97	0.0000
Residual	1.67209	4	0.41802		
Total (Corr.)	1139.94	5			

Cuadro CP1a-4-1b: **e** vs. **\hat{y}** ($n = 6$; Reg. lineal)

Residual Plot

residual

predicted Media_y

Cuadro CP1a-5-1b: Resumen de análisis de Reg. polinomial

95.0% confidence intervals for coefficient estimates				
Parameter	Estimate	Std Error	Lower Limit	Upper Limit
CONSTANT	0.361745	0.262311	-0.473045	1.19654
x	2.22507	0.0853941	1.95331	2.49683
x^2	-0.0121001	0.00412784	-0.0252367	.00103653



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001
Rev1
31/10/2010
Pag. 11 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Correlation Coefficient = 0.999266

R-Squared = 99.8533 percent ($R^2 = 0.9985$)

R-Squared (adjusted for d.f.) = 99.8166 percent

Standard Error of Est. = 0.646547

Mean absolute error = 0.520637

Durbin-Watson statistic = 1.27813 (P=0.0243)

Lag 1 residual autocorrelation = 0.235277

The StatAdvisor: The output shows the results of fitting a linear model to describe the relationship between Media_y and x. The equation of the fitted model is $\text{Media}_y = 0.823111 + 1.98346 \cdot x$. Because the P-value in the ANOVA table is less than 0.01 (0.05), there is a statistically significant relationship between Media_y and x at the 99% (95%) confidence level.

The Durbin-Watson (DW) statistic tests the residuals to determine if there is any significant correlation based on the order in which they occur in your data file. Since the P-value is less than 0.05, there is an indication of possible serial correlation (si bien puede estar condicionada por la posible no linealidad).

Cuadro CP1a-5-2: Predicciones basadas en el modelo de Reg. Lineal, para $Nr' = 1, 3, 5$ y 7 , respectivamente:

Ybar	Predicted	95% Prediction Limits	
	X	Lower	Upper
30.0	14.7101	13.6358	15.7845
30.0	14.7101	13.9303	15.49
30.0	14.7101	14.0037	15.4165
30.0	14.7101	14.0377	15.3826



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 12 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Anexo V. Caso práctico 1b(resuelto)

Análisis y validación de un modelo de calibración univariante, durante la fase de pre-validación del método del caso práctico 1a (empleando réplicas de las disoluciones patrón).

Datos^a de calibración de un método instrumental (GC). El registro RC001 contiene la siguiente información útil: $x = conc.$ de tolueno ($ng.ml^{-1}$) correspondientes a patrones de calibración preparados fortificando muestras de agua (cuya concentración se asume despreciable) e $Y' =$ áreas de pico (uA), replicadas. Cálculo de otros estadísticos (vectores) a partir de estos datos:

Media(y), s, s², w=1/s² (variable de ponderación), **RSD(y)** (%) y **x²**.

- Validar el modelo.
- Predecir y caracterizar la *conc.* de tolueno para una muestra cuya señal es igual a 30 (UA) si esta ha sido obtenida con 1, 3, 5 y 7 réplicas.
- Verificar el límite de cuantificación del método L_Q

En el Informe incluir sugerencias sobre aspectos de validación del método relativos a su calibración y el diseño de los patrones (concentraciones, réplicas) para la calibración del método en rutina.

Registro de calibración: RC001

Registro de Calibración.													
ACUOT													
Orden	nc	x	Y'				Media(y)	s(y)	s ² (y)	w	RSD(y)	x ²	
replicas													
1	1	0	0.4	0.3	0.4	0.300	0.300	0.340	0.0548	0.00300	333.333	16.11	0
2	2	1	2.1	2.2	2.3	2.100	2.100	2.160	0.0894	0.00800	125.000	4.14	1
3	3	2	5	5.4	5.2	5.200	5.200	5.200	0.2000	0.04000	25.000	3.85	4
4	4	5	11	11.3	11.7	11.400	11.400	11.350	0.2887	0.08333	12.000	2.54	25
5	5	10	21.4	20.7	21.5	21.500	21.500	21.200	0.4359	0.19000	5.263	2.06	100
6	6	20	41.6	39.2	40.4	39.100	40.000	40.060	1.0188	1.03800	0.963	2.54	400

No=n= 6

nc	x	y
1	0	0.4
1	0	0.3
1	0	0.4
1	0	0.3
1	0	0.3
2	1	2.1
2	1	2.2
2	1	2.3
2	1	2.1
2	1	2.1
3	2	5.0
3	2	5.4
3	2	5.2
4	5	11.0
4	5	11.3
4	5	11.7
4	5	11.4
5	10	21.4
5	10	20.7
5	10	21.5
6	20	41.6
6	20	39.2
6	20	40.4
6	20	39.1
6	20	40.0

n= 25

(diseño expandido: todos los valores x_i, y_i)

Etapa 1: CALIBRACIÓN

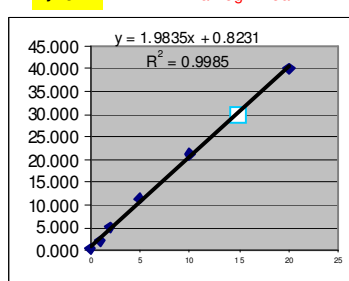
$$b_0 = 0.823 \quad b_1 = 1.983$$

Media= 6.3333 13.3850 (centroide)
 y_M (futuras muestras)

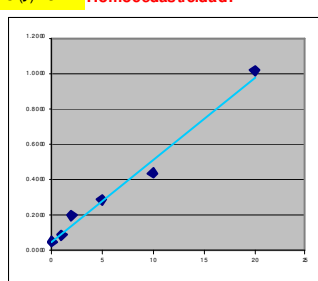
Etapa 2: PREDICCIÓN

y_M	x_M
30	14.7101
Media	30 14.7101

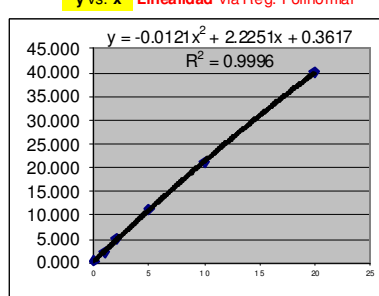
y vs. x Linealidad vía Reg. Lineal



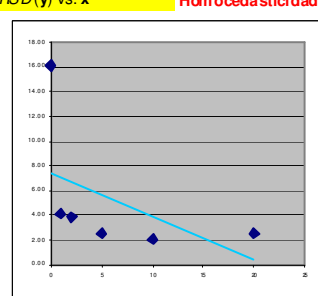
s(y) vs. x Homocedasticidad:



y vs. x Linealidad vía Reg. Polinomial



RSD(y) vs. x Homocedasticidad:



^a Adaptados de ref 6. La señal **Media(y)** coincide con la señal empleada en el caso práctico 1a. Esto permite comparar los resultados de los casos prácticos 1a y 1b.



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 13 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y
tratamiento de datosPROFESOR/ES: Salvador Sagrado Vives.
DEPARTAMENTO: Química Analítica

ALUMNO:

31/10/2010, Pag. 13 de

INFORME P1: Casos prácticos de calibración univariante (Sesión 1)

Caso práctico: CP1b

	INFORME	COMENTARIOS
1.- Objetivos del estudio	<p>Análisis y validación de un modelo preliminar de calibración de método para determinar tolueno (concentración, ng.ml^{-1}) mediante CG (señal = Área de pico en UA). Existen 3 objetivos:</p> <p>(a) Análisis de regresión lineal empleando la matriz \mathbf{Y}' y \mathbf{x} Decidir el modelo correcto para la posterior etapa de rutina</p> <p>(b) Predecir la <i>conc.</i> de tolueno para una muestra cuya señal es igual a 30 (UA) si esta ha sido obtenida con 1, 3, 5 y 7 réplicas.</p> <p>(c) Estimar y verificar L_Q</p>	Datos adaptados de ref 6.
2.- Organizar y caracterizar datos	<p>Los datos figuran en el enunciado. Se trata de vectores columna con excepción de las réplicas (áreas de pico) que se muestran como vectores fila dentro de la matriz \mathbf{Y}'.</p> <p>Los datos corresponden en realidad a 2 variables (una independiente; $\mathbf{x} = \text{conc.}$) y otra dependiente (señal) replicada, seguida de cálculo de otros vectores a partir de esta.</p> <p>Escalares que caracterizan el problema:</p> <ul style="list-style-type: none">- $Nr = 5, 5, 3, 4, 3, 5$ réplicas a cada nc- $Nv = 2$ variables (<i>conc.</i> de tolueno y señal instrumental)- $No = 6$ objetos (nc de las disoluciones patrón de tolueno)- $Nf = 1$ factor (<i>conc.</i>; intra-columna)	<p>$\mathbf{x} = \text{conc. de tolueno (ng.ml}^{-1}\text{)}$,</p> <p>$\mathbf{Y}' = \text{áreas de pico (uA), replicadas.}$</p> <p>Media(y) = media de la señal a cada nc.</p> <p>s = desviación estándar de la señal a cada nc</p> <p>s² = varianza de la señal a cada nc</p> <p>w ($= 1/s^2$) variable de ponderación</p> <p>RSD(y) = desviación estándar relativa de la señal a cada nc.</p> <p>También se emplea $n = 25$ datos (datos (y))</p>
3.- Planteamiento	<p>Se empleará el Registro RC001 (programado en EXCEL®) y STATGRAPHICS®.</p> <p>(a) Validación parcial del modelo.</p> <ul style="list-style-type: none">- Gráfico (y) vs. \mathbf{x} (Reg. lineal, $n = 25$)- Gráfico e vs. $\hat{\mathbf{y}}$ (Reg. lineal, $n = 25$)- Gráfico de caja ($n = 25$)- Test de Cochran ($n = 25$)- Estadísticos de Reg. lineal ($n = 25$)- Gráfico (y) vs. \mathbf{x} (Reg. lineal ponderada, $n = 6$)- Gráfico e vs. $\hat{\mathbf{y}}$ (Reg. lineal ponderada, $n = 6$)- Estadísticos de Reg. lineal ponderada ($n = 6$)- Estadísticos de Reg. polinomial ponderada ($n = 6$) <p>(b) Interpolación de la señal 30 en el modelo (Reg. lineal ponderada) para ($Nr' = 1, 3, 5, 7$)</p> <p>(c) Estimación de L_Q</p>	<p>Se emplean parte de los criterios del Anexo III</p> <p>Evaluación de linealidad (exploración gráfica)</p> <p>Evaluación de anómalos y heterocedasticidad (exploración gráfica)</p> <p>Test de homocedasticidad (varianzas de los 6 vectores de datos replicados)</p> <p>Evaluación del fallo de ajuste</p> <p>Evaluación de linealidad (exploración gráfica)</p> <p>Evaluación de anómalos (exploración gráfica)</p> <p>Evaluación de estadísticos/test</p> <p>Evaluación de linealidad vía $IQ(b_2)$</p>



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 14 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

<p>4.- Exploración de datos</p>	<p>- En el registro RC001 se muestran los gráficos y vs. x para el modelo de regresión Media(y) vs. x ($n = 6$) ajustados empleando regresión lineal y polinomial. Se puede apreciar una ligera no-linealidad, aunque no parece importante (R^2 Polin. $\sim R^2$ lineal > 0.99; $b_2 \ll b_1$). También se muestran los gráficos s(y) vs. x y RSD(y) vs. x. Se aprecia una importante heterocedasticidad (s(y) aumenta con x, prácticamente de forma lineal, y por tanto las varianzas no parecen homocedásticas). Se observa la típica tendencia a aumentar la imprecisión relativa (RSD(y)) conforme disminuye la concentración.</p> <p>- En los cuadros CP1b-4-1a y CP1b-4-1b se muestran los gráficos y vs. x y e vs. y modelo lineal empleando todas las réplicas en el eje-y ($n = 25$; datos x e Y'). El gráfico (y) vs. x incluye una interpolación en el modelo del valor de y (señal) = 30 UA (superior al centroide; 13.385), lo que proporciona una valor de x (conc.) ~ 14.76 (por encima del centroide). El gráfico e vs. y no deja claro el aspecto de linealidad pero apuntan a una probable heterocedasticidad (varianza superior a valores elevados de x). Los gráficos no revelan ni anómalos importantes, ni falta de independencia). No quedan claros los aspectos de falta de normalidad, que quedaría a expensas de confirmar los efectos mencionados (no-linealidad y heterocedasticidad).</p> <p>- En el cuadro CP1b-4-2 se muestra el gráfico de cajas de los vectores de datos replicados de Y'. No se aprecian anómalos (puntos aislados fuera de la caja limitada por el recorrido intercuartílico).</p> <p>En los cuadros CP1b-4-3a y CP1b-4-3b se muestran los gráficos y vs. x y e vs. y para el modelo lineal ponderado, empleando w como variable de ponderación. ($n = 6$; datos x, Media(y), w). El gráfico (y) vs. x incluye una interpolación en el modelo del valor de y (señal) = 30 UA (superior al centroide; 13.385), lo que proporciona una valor de x (conc.) ~ 14.21 (por encima del centroide). El gráfico e vs. y sugiere cierta no-linealidad o un posible anómalo asociado a Media(y) al mayor nivel de concentración ($nc = 6$). No revela ni falta de independencia ni de falta de normalidad.</p>	<p>Ver Enunciado</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convendrá verificar la posible no-linealidad (<i>mismos resultados que en el caso práctico 1a</i>) - Convendrá verificar la posible no-linealidad - Convendrá verificar la probable heterocedasticidad <p>Ver Anexo al Informe</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convendrá verificar la Convendrá verificar la probable heterocedasticidad <p>Ver Anexo al Informe</p> <p>Ver Anexo al Informe</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convendrá verificar la posible no-linealidad cuantitativamente - Convendrá verificar la ausencia de anómalos cuantitativamente
<p>5.- Estimación de parámetros y estadísticos</p>	<p>El cuadro CP1b-5-1a muestra los resultados del test de Cochran (homogeneidad de varianzas) para el caso $n=25$.</p> <p>El cuadro CP1b-5-2 muestra un análisis de regresión lineal ($n = 25$) mostrando el ANOVA con el test de fallo de ajuste.</p> <p>El cuadro CP1b-5-3a muestra un análisis de regresión lineal ponderada ($n = 6$), resaltando los parámetros del modelo, el ANOVA y estadísticos R, R^2 y Durbin-Watson.</p> <p>El cuadro CP1b-5-3b muestra un análisis de regresión polinomial ponderada ($n = 6$), resaltando el parámetros $IC(b_2)$ del modelo.</p>	<p>Ver Anexo al Informe</p> <p>Se resaltan parámetros indicados en el Anexo III</p>
<p>6.- Validación del modelo</p>	<p>El modelo empleando réplicas muestra heterocedasticidad (p-Cochran < 0.05) y fallo de ajuste ($p < 0.05$) para $NC=95\%$.</p> <p>El modelo de regresión ponderada muestra linealidad ($R^2 > 0.99$, pero especialmente $IC(b_2)$ incluye a 0) y es significativo ($p < 0.05$, $NC = 95\%$). La autocorrelación sugiere que la preparación de los patrones se haga en orden aleatorio.</p> <p>De acuerdo con los criterios de STATGRAPHICS® (no mostrados), no se aprecian anómalos en el modelo lineal ponderado.</p>	<p>Criterios del Anexo III</p> <p>Criterios del STATGRAPHICS® (residuales y puntos influyentes)</p>
<p>7.- Predicciones y caracterización</p>	<p>El cuadro CP1b-5-4 muestra la interpolación de la señal de la muestra (estimación de la concentración de la muestra y desviación estándar, para distintos valores de Nr'). Los resultados para el modelo lineal ponderado (redondeando) para una $y_M = 30$ UA) son:</p>	<p>Ver Anexo al Informe</p>



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 15 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

	$Nr=1$: x-est. $14 \pm 4 \text{ ng.mL}^{-1}$ $Nr=3$: x-est. $14 \pm 3 \text{ ng.mL}^{-1}$ $Nr=5$: x-est. $14 \pm 3 \text{ ng.mL}^{-1}$ $Nr=7$: x-est. $14 \pm 2 \text{ ng.mL}^{-1}$	
8.- Empleo de los resultados de calibración	<p>El cuadro CP1b-5-5 muestra la estimación inicial con los datos disponibles del límite de cuantificación. Se emplean 2 criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> - El primero ($L_Q = k_Q s_{bl} / b_1$), se basa en el valor $k_Q = 10$ (lo que concuerda con un nivel de imprecisión del 10%), desviación estándar del blanco ($s_{bl} \sim 0.055$; Registro RC001) y la pendiente ($b_1 \sim 2$; Registro RC001). - El segundo se estima (visualmente), como la concentración asociada a una imprecisión (RSD(y) = 10%; Grafico del registro RC001). 	Ver Anexo al Informe Criterios de la ref. [6]
9.- Informe [CP1b]	<p>(a) Los resultados indican que el modelo de calibración viene afectado por heterocedasticidad significativa, lo que sugiere el empleo de regresión ponderada. El modelo de regresión. Salvo el aspecto de la independencia de los residuos, el modelo se puede considerar provisionalmente validado.</p> <p>(b) Las estimaciones indican que no hay una sustancial mejora en la calidad del resultado más allá de $Nr' = 3$ réplicas. Para este nivel $RSD(\text{conc.}) = 100 \cdot 3 / 14 = 21.4 \%$.</p> <p>(NOTA: para $Nr' = 1$; $RSD(\text{conc.}) = 28.6\%$; Puede no resultar aceptable en ciertas situaciones/normativas en análisis rutinario)</p> <p>(c) La estimación inicial de $L_Q = 0.5 \text{ ng.mL}^{-1}$ es consistente con los datos de calibración del método.</p>	<p>Notar que la imprecisión de la concentración es notablemente mas elevada que empleando la regresión por mínimos cuadrados (unas 5 veces superior)</p> <p><u>Sugerencia:</u> En rutina, se podría emplear un calibrado sin réplicas ($Nr = 1$) ya que la calidad del modelo es adecuada (ver Informe [CP1a]), pero empleando la variable de ponderación w (estimada en validación del método. Podría ser interesante definir la relación $s(y) = f(x)$, $s^2(y) = f(x)$, o incluso directamente $w = f(x)$; considerar repetir la calibración con réplicas en la validación del método para asegurar dicha relación).</p> <p>Conviene preparar los patrones en orden aleatorio. Las concentraciones de los mismos deberían cubrir el intervalo $0.5 (L_Q) - 20$ (ó 30) ng.mL^{-1}, según el grado de contaminación de muestras industriales. Puesto que la zona de bajas concentraciones será la más usual un diseño adecuado podría incluir los nc:</p> <p>0.5, 1, 2, 5, 10, 20 ng.mL^{-1}; $OM(x) = 1.4$</p>
Anexo al Informe	<p>Cuadro CP1b-4-1a: (y) vs. x ($n = 25$; Reg. lineal). Interpolación de la señal (30 UA) para el caso $Nr' = 1$</p> <p style="text-align: center;">Plot of Fitted Model</p>	<p>Cuadro CP1b-4-1b: e vs. \hat{y} ($n = 25$; Reg. lineal)</p> <p style="text-align: center;">Residual Plot</p>



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

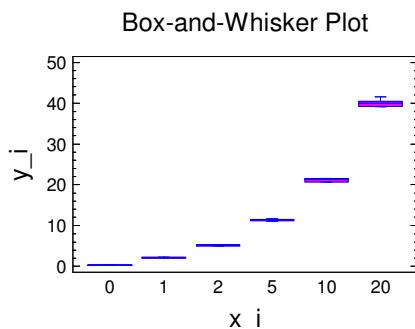
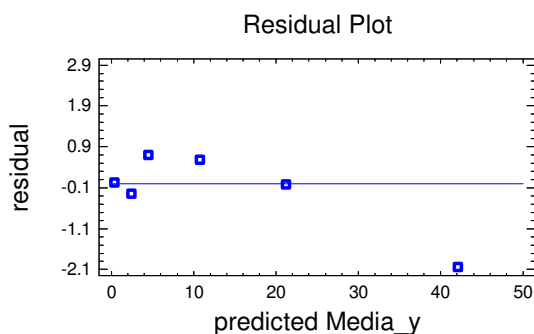
31/10/2010

Pag. 16 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Cuadro CP1b-4-2: Gráfico de cajas

Cuadro CP1b-4-3b: e vs. \hat{y} ($n = 6$; Reg. lineal ponderada)Cuadro CP1b-5-1: Test de Cochran ($n = 25$)

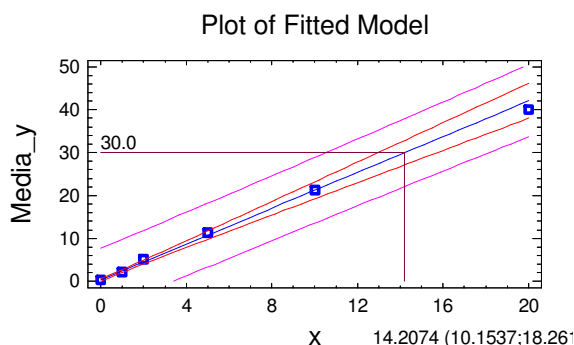
Variance Check

Cochran's C test: 0.761928 P-Value = 0.000240823

The StatAdvisor: The four statistics displayed in this table test the null hypothesis that the standard deviations within each of the 6 columns are the same. Of particular interest are the three P-values. Since the smallest of the P-values is less than 0.05 (Cochran), there is a statistically significant difference amongst the standard deviations at the 95.0% confidence level.

Cuadro CP1b-5-3a: Resumen de análisis de Reg. lineal ponderada ($n = 6$):

Parameter	Estimate	Std Error	T Statistic	P-Value
Intercept	0.315999	0.127414	2.4801	0.0682
Slope	2.08933	0.0752833	27.7529	0.0000

Cuadro CP1b-4-3a. **Media(y)** vs. **x** ($n = 6$; Reg. Lineal ponderada). Interpolación de la señal (30 UA) para el caso $Nr' = 1$ Cuadro CP1b-5-2: Resumen de análisis de Reg. Lineal ($n = 25$)

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	5432.29	1	5432.29	10663.11	0.0000
Residual	11.7173	23	0.509447		
Lack-of-Fit	6.81128	4	1.70282	6.59	0.0017
Pure Error	4.906	19	0.258211		
Total (Corr.)	5444.01	24			

The StatAdvisor: The lack of fit test is designed to determine whether the selected model is adequate to describe the observed data, or whether a more complicated model should be used. The test is performed by comparing the variability of the current model residuals to the variability between observations at replicate values of the independent variable X. Because the P-value for lack-of-fit in the ANOVA table is less than 0.01 (0.05), there is statistically significant lack-of-fit at the 99% (95%) confidence level. You might consider selecting a different model ...



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 17 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
--------	----------------	----	-------------	---------	---------

Model	5451.77	1	5451.77	770.22	0.0000
-------	---------	---	---------	--------	--------

Residual	28.3127	4	7.07817		
----------	---------	---	---------	--	--

Total (Corr.)	5480.08	5			
---------------	---------	---	--	--	--

Correlation Coefficient = 0.997413

R-Squared = 99.4834 percent

R-Squared (adjusted for d.f.) = 99.3542 percent

Durbin-Watson statistic = 1.07981 (P=0.0095)

Lag 1 residual autocorrelation = 0.0490327

The StatAdvisor: The Durbin-Watson (DW) statistic... Since the P-value is less than 0.05, there is an indication of possible serial correlation.

Cuadro CP1b-5-3b: Resumen de análisis de Reg. polinomial ponderada ($n = 6$):

95.0% confidence intervals for coefficient estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
-----------	----------	------------	-------------	-------------

CONSTANT	0.275057	0.138493	-0.165691	0.715806
----------	----------	----------	-----------	----------

x	2.20471	0.150321	1.72632	2.6831
---	---------	----------	---------	--------

x^2	-0.0103549	0.0115735	-0.0471871	0.0264772
-----	------------	-----------	------------	-----------

Cuadro CP1b-5-4: Predicciones basadas en el modelo de Reg. Lineal ponderada, para $Nr' = 1, 3, 5$ y 7 , respectivamente:

Ybar	Predicted	95% Prediction Limits	
	X	Lower	Upper
30.0	14.2074	10.1537	18.2612
30.0	14.2074	11.3615	17.0534
30.0	14.2074	11.6711	16.7438
30.0	14.2074	11.816	16.5988

Cuadro CP1b-5-5: Estimación inicial de L_Q

Estimación inicial (basada en 2 criterios)

 $L_Q = k_Q s_{bl} / b_1 \sim 0.3 \text{ ng.mL}^{-1}$ $L_Q = \text{conc (RSD=10\%)} \sim 0.5 \text{ ng.mL}^{-1}$



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 18 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Anexo VI. Protocolo para empleo de SPSS en validación de modelos de calibración univariante

Datos: Se dispone de los siguientes datos de calibración acerca de la determinación fluorimétrica de quinina: existen 6 patrones ($N=6$) con concentraciones, x_i , de quinina en ng/ml (Vector \mathbf{x}) para los que se ha medido la intensidad de fluorescencia, I , en unidades arbitrarias (Vector \mathbf{y}). Los datos se muestran en la Tabla. Obtener y validar el modelo de regresión incluyendo todos los criterios del **Anexo III** y realizar el informe del mismo.

Orden _i	x_i (ng.mL ⁻¹)	y_i (I)
1	0	4.0
2	10	21.2
3	20	44.6
4	30	61.8
5	40	78.0
6	50	105.2

a) Resolución vía software SPSS. Protocolo

NOTA: Las instrucciones sombreadas corresponden al menú del programa

	COMENTARIOS	PROTOCOLO
1	Abrir SPSS	Inicio, programas...
2	Introducir datos manualmente	Introducir datos [Aceptar] Clic en la 1ª casilla de datos (sup.-izq.)/ Introducir el vector de índices i (1 2 3 4 5 6) dando RETURN cada vez./ Introducir x_i en la columna nº 2 e y_i en la columna nº 3
3	Cambiar el nombre de las variables	2 clic-rápidos en título (VAR00001) de columna nº 1/Nombre: i / en título de columna nº 2/Nombre: x / en título de columna nº 3/Nombre: y /[Solapa Vista de datos (inf.-izq.)]
4.a	Selección x e y para realizar una regresión	Analizar / regresión / lineal/ y ► dependiente / x ► independiente / i ► etiquetas de caso
4.b	Parámetros del modelo	[Estadísticos]/ Estimaciones (ya está por defecto)/ Intervalos de confianza/ Ajuste del modelo (ya está por defecto)/ Durbin-Watson/ [Continuar] [Guardar]/Valores pronosticados no tipificados/ Residuos no tipificados/ Residuos tipificados/ Distancia de Cook / Valores de influencia (Leverage centrado)/ DFBetas tipificadas/ Dfajuste tipificado/ [Continuar]/ [Aceptar]
5.a	Validación de linealidad (criterio Anexo III) Gráfico y – x. Ver Gráfico 1.1.1 (RESULTADOS)	Gráficos/dispersión/Definir/ y ► Eje Y / x ► Eje X / i ► Etiquetar los casos mediante/ [Aceptar] 2 clics-rápidos dentro del gráfico Diseño/opciones/ Etiqueta de caso: Activado/ Ajustar línea: total / [Aceptar] Cerrar (clic en x-sup.-der.)
5.b	Gráfico e- ŷ. Ver Gráfico 1.1.2 (RESULTADOS)	Gráficos/dispersión/Definir/ [restablecer]/ Unstandardized Residuals ► Eje Y/ Unstandardized predicted value ► Eje X/ [Aceptar] / 2 clics-rápidos sobre el gráfico / Diseño/opciones/ Etiqueta de caso: Activado/ Línea de referencia para la media en Y: total/ Mostrar trazos de unión a las líneas/ [Aceptar] / Cerrar (clic x-sup.-der.)
5.c	Estadístico R. Ver Cuadro 1.1.1 (RESULTADOS)	(Ventana izq. Resultados)/Resumen del modelo
5.d	Significación. Sig ($p(F)$). Ver Cuadro 1.1.2 (RESULTADOS)	(Ventana izq. Resultados)/ANOVA



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pag. 19 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

6.a	Residuos-Independencia: Gráfico e-i. Ver Gráfico 1.1.3 (RESULTADOS)	Gráficos/ dispersión/ Definir/ [Reestablecer] / Unstandardized residuals ► Eje Y / i ► Eje X / [Aceptar] 2 clics (botón-izq.) sobre el gráfico / Diseño/ opciones/ Etiqueta de caso: Activado/ línea de referencia para la media en Y: total/ [Aceptar]/ Cerrar (x-sup.-der.)
6.b	Test Durbin-Watson. Ver Cuadro 1.1.1 (antes)	(Ventana izq. Resultados)/ Resumen del modelo
7.a	Residuos-Normalidad Gráfico e- \hat{y}. Ver Gráfico 1.1.2 (antes)	(Ventana izq. Resultados)/ Dispersión de res_1 pre_1
7.b	Test (Kolmogorov-Smirnov). Ver Cuadro 1.1.3 (RESULTADOS)	Analizar/ estadísticos descriptivos/ explorar/ Unstandardized Residuals ► Dependientes / i ► Etiquetar los caso mediante / [mostrar Gráficos] / [Gráficos]/ diagrama de cajas : ninguno / descriptivos : quitar todos / Gráficos con pruebas de normalidad/ [continuar]/ [Aceptar] (Ventana izq. Resultados)/ Pruebas de normalidad
8.a	Residuos-Homocedasticidad (no hay replicas) Gráfico e-x. Ver Gráfico 1.1.4 (RESULTADOS)	Gráficos/ dispersión/ Definir/ [Restablecer]/ Unstandardized Residuals ► Eje Y / x ► Eje X / i ► Etiquetar los casos mediante / [Aceptar] 2 clics (botón-izq.) sobre el gráfico / Diseño/ opciones/ Etiqueta de caso: Activado/ Línea de referencia para la media en Y: total/ Mostrar trazos de unión a las líneas/ [Aceptar]/ Cerrar (x-sup.-der.)
9	Anómalos Pantalla de datos. Ver Cuadro 1.1.4 (RESULTADOS)	Solapa de windows (parte inferior pantalla)/ Editor datos SPSS
10	Coeficientes, Intervalos de confianza (informe del modelo) Ver Cuadro 1.1.5 (RESULTADOS)	(Ventana izq. Resultados)/ Coeficientes
FIN	Pantalla de datos	Solapa de windows (parte inferior pantalla)/ Editor datos SPSS

Atención: Las instrucciones (válidas para la versión 14 de SPSS) pueden cambiar para futuras ediciones del software

b) RESULTADOS (Comentados):

Gráfico 1.1.1. Gráfico $y - x$. Observación: buen ajuste de los datos (puntos) al modelo (línea). Conclusión: **Linealidad** aparentemente adecuada. Sugerencia: examinar el gráfico $e - \hat{y}$ que, como sugiere el Anexo III, es más informativo que este.

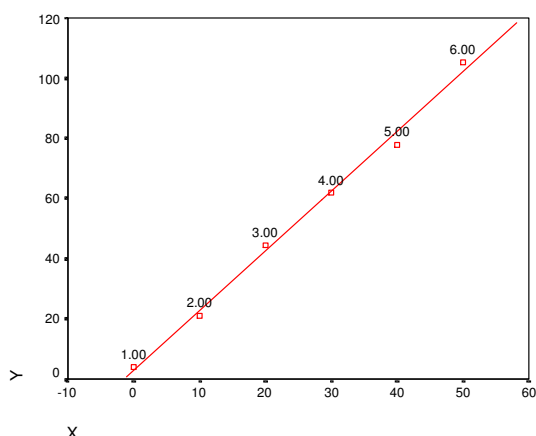
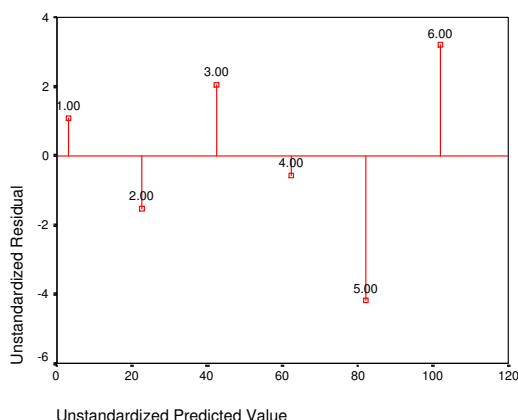


Gráfico 1.1.2. Gráfico $e - \hat{y}$. Observación 1: No se aprecia curvatura. **Linealidad** adecuada.

Observación 2: Distribución aleatoria (+/-). Aparente **normalidad** de los **residuos**





MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001

Rev1

31/10/2010

Pág. 20 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.

PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Cuadro 1.1.1. $R > 0.99$. **Linealidad** aparentemente adecuada.
 $DW > 1.4$. **Independencia** de los residuos

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregido	Error típ. de la estimación	Durbin-Watson
1	.997	.995	.994	2.9912	2.630

a Variables predictoras: (Constante), X

b Variable dependiente: Y

$s_e = 2.9912$ (serviría para establecer IC de futuras estimaciones; si bien, SPSS no permite interpolar en el modelo nuevas muestras)

Gráfico 1.1.3. Gráfico e-i. Observación: No se aprecian rachas (++/-). **Independencia** de los residuos

NOTA: En el cuadro 1.1.1 ya se vio que $DW > 1.4$

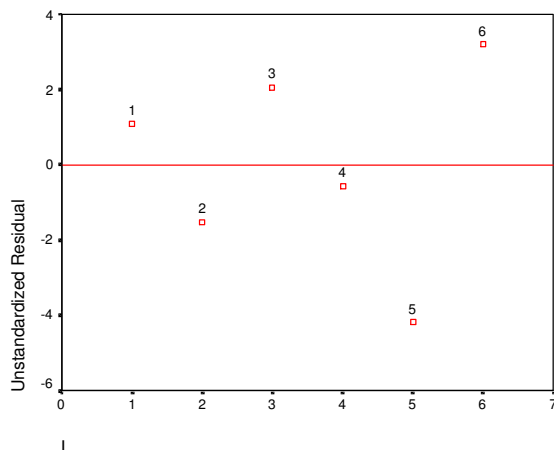
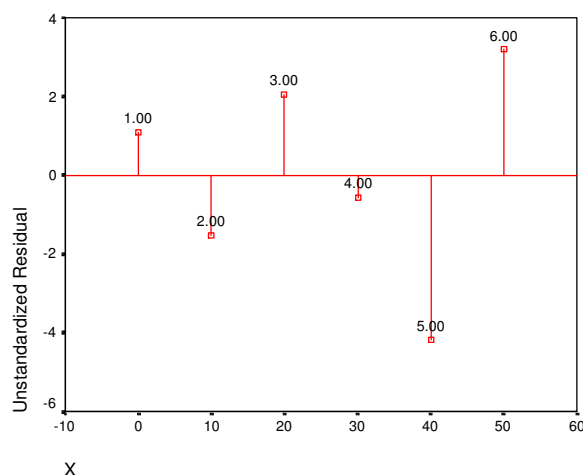


Gráfico 1.1.4. Gráfico e-x. Observación: Parece que los residuos aumentan con x. Conclusión: Es posible que también lo haga la varianza en cuyo caso habría heterocedasticidad (pero, para comprobarlo haría falta réplicas)



Cuadro 1.1.2. Sig ($p(F) < 0.05$). **Regresión significativa**

ANOVA

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	6872.585	1	6872.585	768.140	.000
	Residual	35.788	4	8.947		
	Total	6908.373	5			

a Variables predictoras: (Constante), X

b Variable dependiente: Y

Cuadro 1.1.3. Sig ($p = 0.2 > 0.05$). **Normalidad** de los residuos.

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Unstandardized Residual	.156	6	.200	.967	6	.843

Cuadro 1.1.4. Observaciones: No existen puntos con residuales estandarizados o tipificado ($zres_1 > 2.5$ (no hay anómalos). El punto 6 presenta una distancia de Cook ($coo_1 > 1$ (posible anómalo de regresión). Ningún punto presenta Leverage centrado (lev_1) cercano a $(6-1)/6 = 0.83$ (no hay puntos influyentes). No hay puntos con DFFITS estandarizado ($sdf_1 > 2/(2/6)^{1/2} = 3.46$ (no hay influencia sobre el ajuste). El punto 6 presenta DFBETA estandarizado para b_1 ($sdb1_1 > 2/(6)^{1/2} = 0.82$ (influye sobre el coeficiente de regresión b_1). Conclusión: En conjunto podemos decir que el punto 6 es un posible anómalo. Sugerencia: revisar datos, repetir experiencia (al menos ese punto)

i	x	y	pre_1	res_1	zre_1	coo_1	lev_1	sdf_1	sdb0_1	sdb1_1
1	0	4	2.92381	1.0762	0.3598	0.1495	0.35714	0.49053	0.49053	-0.405
2	10	21.2	22.741	-1.541	-0.5152	0.0789	0.12857	-0.36141	-0.3501	0.2385
3	20	44.6	42.5581	2.0419	0.6827	0.0629	0.01429	0.33153	0.25639	-0.0932
4	30	61.8	62.3752	-0.5752	-0.1923	0.0005	0.01429	-0.08699	-0.02691	-0.0244
5	40	78	82.1924	-4.1924	-1.4016	0.5839	0.12857	-1.69968	0.20581	-1.1216
6	50	105.2	102.01	3.1905	1.0666	1.3141	0.35714	2.21238	-0.8045	1.82681

pre_1 Unstandardized Predicted Value

res_1 Unstandardized Residual

zre_1 Standardized Residual

coo_1 Cook's Distance

lev_1 Centered Leverage Value

sdf_1 Standardized DFFIT

sdb0_1 Standardized DFBETA Intercept

sdb1_1 Standardized DFBETA X



MÁSTER EN TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN QUÍMICA POR LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

PNT_MTEQ001
Rev1
31/10/2010
Pag. 21 de 21

MODULO II. Asignatura: LABORATORIO DE Calibración y tratamiento de datos.
PRÁCTICA: Casos prácticos de calibración univariante

Cuadro 1.1.5. Con estos datos se pueden calcular los intervalos de confianza (IC):

$IC_{b_0} = [-3.087, 8.934]$ incluye a 0; o también $b_0 = 2.924$, (Sig. ($p > 0.05$); estadísticamente = 0)

$IC_{b_1} = [1.783, 2.180]$ no incluye a 0; o también $b_1 = 1.982$, (Sig. ($p < 0.05$); estadísticamente $\neq 0$); **regresión significativa** (según Anexo III)

El semi-intervalo de confianza se puede utilizar para acotar los coeficientes

$$\frac{1}{2} IC_{b_0} = \frac{1}{2} (8.934 - (-3.087)) = 6.0105 \sim 6 \quad (= [t_{0.025;4} * s_{b_0}])$$

$$= 2.776 \times 2.165$$

$$\frac{1}{2} IC_{b_1} = \frac{1}{2} (2.18 - 1.783) = 0.1985 \sim 0.20 \quad (= [t_{0.025;4} * s_{b_1}])$$

$$= 2.776 \times 0.072$$

Coeficientes

	Coeficientes no estandarizados	Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
Modelo	B	Error tip.	Beta		Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	2.924	2.165		1.351	-3.087	8.934
	1.982	.072	.997	27.715	1.783	2.180

a Variable dependiente: Y

Informe modelo:

COMENTARIOS: Posible heterocedasticidad (residuales), sin confirmar, y posible anómalo en el punto 6.

SUGERENCIA: Repetir, haciendo réplicas en y