



Interpretação de parâmetros de validação em modelos de calibração multivariada por NIRS

Mariana Dias

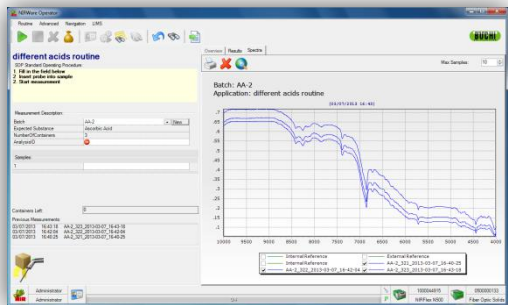
Margarete de Koning

Bibliografia

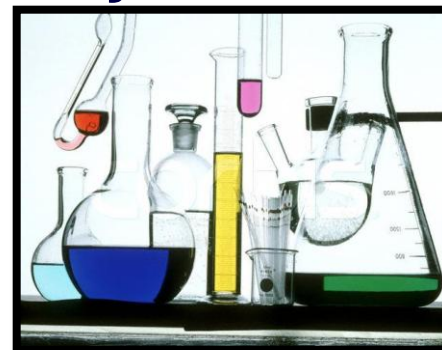


1. Manual NIRCal 5.5 (BUCHI)
2. Valderrama P, Braga J. W. B., Poppi R. J, *Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada, Química Nova*, 32 (5), 1278 – 1287 (2009).
3. Richard G. Brereton, *Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, Analyst*, 125, 2125–2154 (2000).
4. Márcia M. C. Ferreira, Alexandre M. Antunes, Marisa S. Melgo, Pedro L. O. Volpe, *Quimiometria I: Calibração Multivariada, um Tutorial, Química Nova*, 22 (5), 724 – 731 (1999).
5. T. Naes, T. Isaksson, T. Fearn and T. Davies, *Multivariate Calibration and Classification, NIR Publication, UK, 2002.*

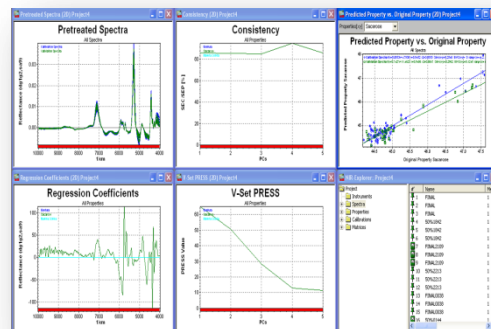
ETAPAS DE DESENVOLVIMENTO DE MODELOS DE CALIBRAÇÃO



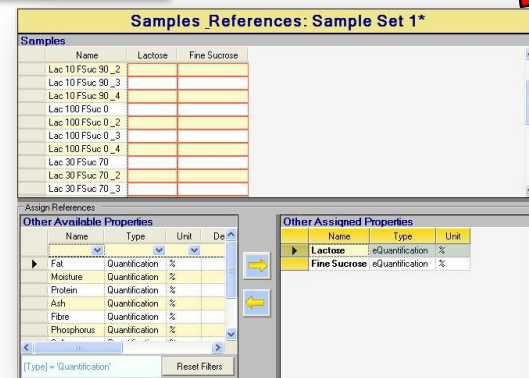
Obtenção dos espectros



Análise química convencional das amostras



Calibração Multivariada



The screenshot shows a software window titled 'Samples References: Sample Set 1*'. It contains a table of samples and references, and a list of assigned properties. The table has columns for 'Name', 'Lactose', and 'Fine Sucrose'. The list of assigned properties includes 'Fat', 'Moisture', 'Protein', 'Ash', 'Fibre', and 'Phosphorus'.

Name	Lactose	Fine Sucrose
Lac 10 FSuc 90_2		
Lac 10 FSuc 90_3		
Lac 10 FSuc 90_4		
Lac 100 FSuc 0		
Lac 100 FSuc 0_2		
Lac 100 FSuc 0_3		
Lac 100 FSuc 0_4		
Lac 30 FSuc 70		
Lac 30 FSuc 70_2		
Lac 30 FSuc 70_3		

Name	Type	Unit
Fat	Quantification	%
Moisture	Quantification	%
Protein	Quantification	%
Ash	Quantification	%
Fibre	Quantification	%
Phosphorus	Quantification	%

Associação dos espectros com os valores das propriedades .



Validação do modelo



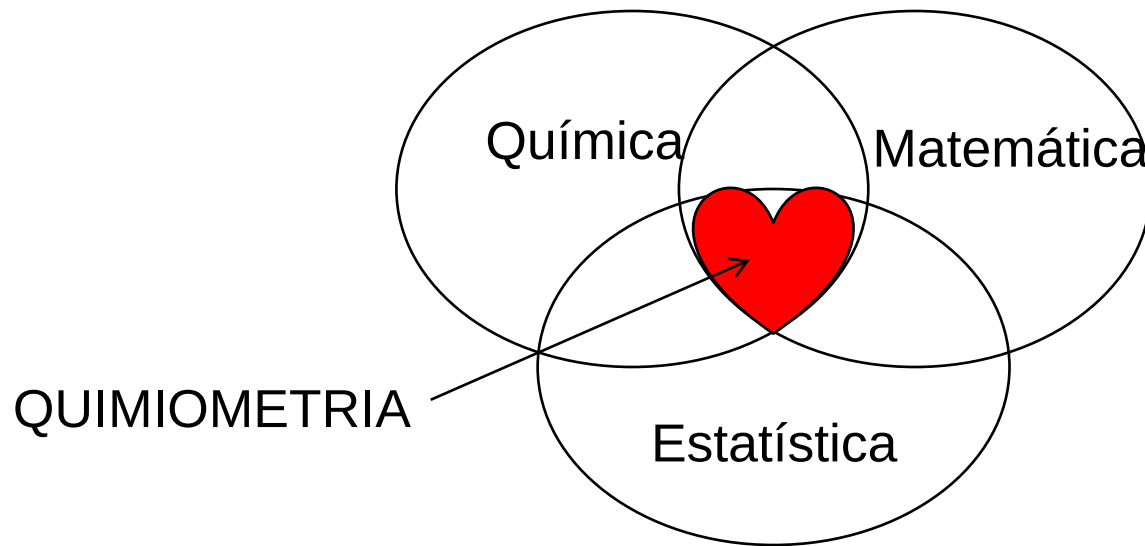
Uso em rotina

QUIMIOMETRIA



Uso de métodos matemáticos e estatísticos para manipular, interpretar e predizer dados químicos.

O termo só apareceu na década de 1970, na química analítica, como decorrência dos grandes progressos na instrumentação e nos microcomputadores.



QUIMIOMETRIA



Quimiometria é aplicada para resolver problemas descritivos e preditivos em química.

•**Aplicações descritivas:** propriedades dos sistemas químicos são modeladas com o objetivo de criar relações entre dados e estrutura – IDENTIFICAÇÃO/CLASSIFICAÇÃO.

•**Aplicações preditivas:** propriedades dos sistemas químicos são modeladas com o objetivo de prever novas propriedades ou comportamento de interesse – QUANTIFICAÇÃO.

Em ambos os casos, o conjunto de dados é geralmente complexo envolvendo um grande número de variáveis e observações.



Métodos Quantitativos

Calibração Multivariada

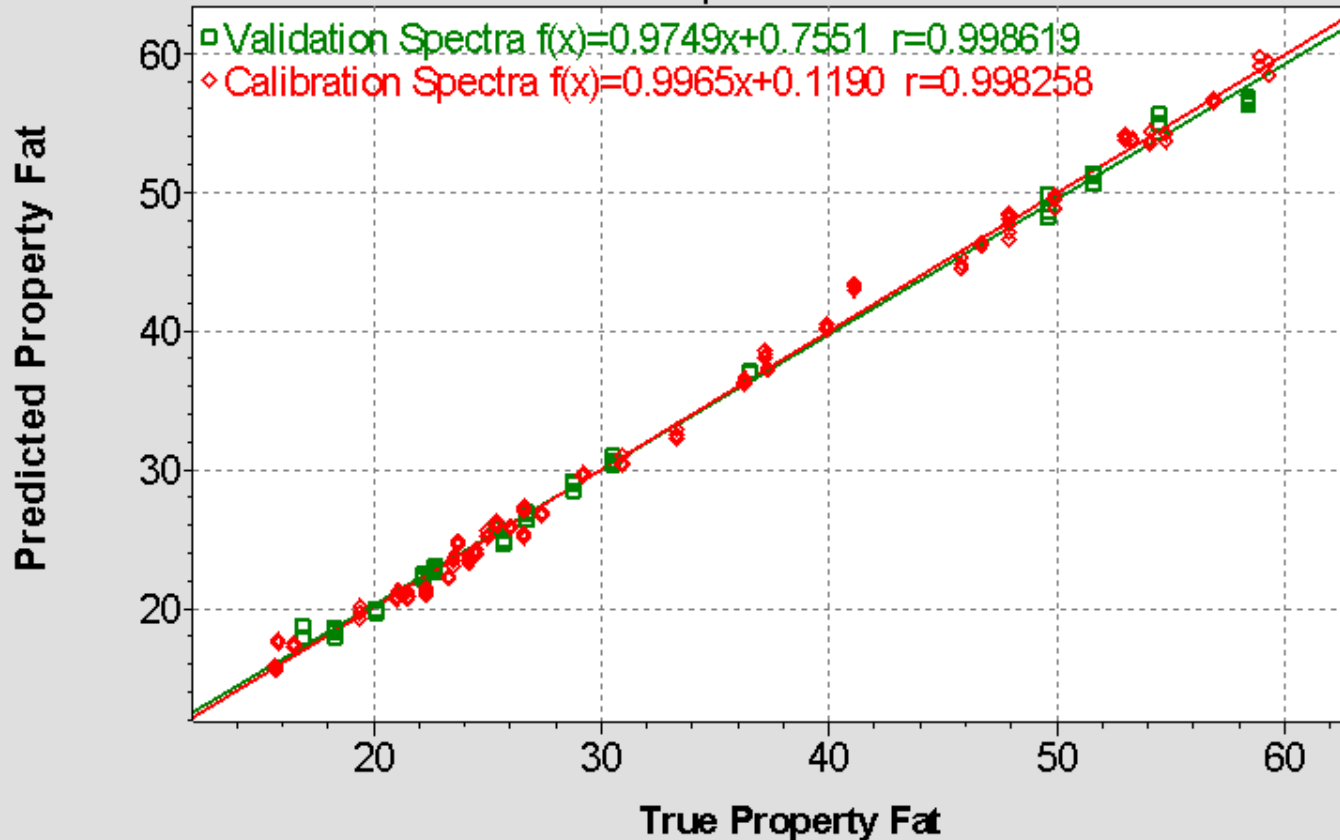
- **MLR** (Multiple Linear Regression)
 - Determinação quantitativa clássica
- **PCR** (Principal Component Regression)
 - Método simples e rápido
- **PLS** (Partial Least Squares)
 - Ferramenta de interação
 - Alternativa ao PCR

QUIMIOMETRIA

Original Spectra

Fat in dried fish

All Spectra



(linha) da matrix X

stra

Agências reguladoras e órgãos de fiscalização



- United States Pharmacopeia (USP)



- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS



- ASTM - *American Society for Testing and Materials*
NORMA E1655 - 05



Validação de Modelos Multivariados e Figuras de Mérito



- Exatidão
- Precisão
- BIAS
- Robustez
- Sensibilidade
- Seletividade
- Linearidade
- Ajuste
- Razão sinal/ruído
- Limite de detecção
- Limite de quantificação
- Intervalos de confiança
- Extensão da faixa de trabalho

EXATIDÃO



- Expressa o grau de concordância entre o valor estimado e o valor de referência.
- É expressa através da raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP – do inglês, Root Mean Squares Error of Prediction):

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{l_v} (y_i - \hat{y}_i)^2}{l_v}}$$

PRECISÃO



Expressa o grau de concordância entre os resultados de uma série de medidas realizadas para uma mesma amostra homogênea em condições determinadas.

- Repetibilidade



- Reprodutibilidade



TESTE PARA ERROS SISTEMÁTICOS (BIAS)

BUCHI

- Bias é definido como a diferença entre a média populacional e o seu valor verdadeiro e são todas as componentes de erro não aleatórias. (IUPAC).
- Afeta a precisão, a exatidão e a determinação dos intervalos de confiança.
- E1655-00 da ASTM: teste-t para avaliar se o bias incluso no modelo é significativo.

$$\text{bias} = \frac{\sum_{i=1}^{I_v} (y_i - \hat{y}_i)}{I_v}$$

$$\text{SDV} = \sqrt{\frac{\sum [(y_i - \hat{y}_i) - \text{bias}]^2}{I_v - 1}}$$

$$t_{\text{bias}} = \frac{|\text{bias}| \sqrt{I_v}}{\text{SDV}}$$

Desvio padrão dos erros de validação

ROBUSTEZ



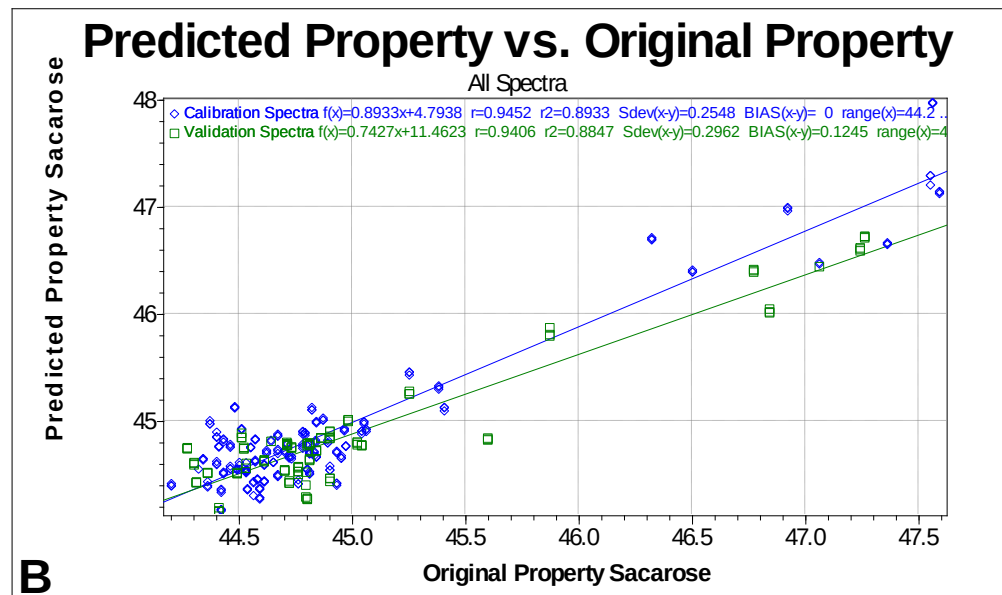
Consiste em testar a performance do modelo de calibração multivariada frente a alguns tipos de variações e averiguar se estas são ou não significativas.

Possíveis variáveis:

- temperatura
- umidade
- analista
- Instrumentação
- sazonalidade
- geografia

LINEARIDADE E AJUSTE

- Linearidade: difícil definição nos modelos PCR e PLS.
- Ajuste: não é uma figura de mérito abordada com frequência em guias e normas oficiais.
- Estimado a partir da correlação entre os valores de referência e os valores estimados.



INTERVALOS DE CONFIANÇA



- Intervalo no qual se pode afirmar com certo grau de confiança, ou probabilidade, que inclui o valor verdadeiro da propriedade de interesse.
- Estimativa razoável da variância dos erros de previsão para amostras desconhecidas

SENSIBILIDADE



Corresponde à fração do sinal responsável pelo acréscimo de uma unidade de concentração à propriedade de interesse.

$$\hat{S\acute{E}N} = \frac{1}{\|\mathbf{b}_k\|}$$

$\mathbf{b}_k$ é o vetor dos coeficientes de regressão.

LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO



- **Limite de detecção (LD):** menores quantidades da espécie de interesse que podem ser **detectadas** quantitativamente.
- **Limite de quantificação (LQ):** menores quantidades da espécie de interesse que podem ser **determinadas** quantitativamente.

$$LD = 3\delta x \|b_k\| = 3\delta x \frac{1}{\hat{S}EN}$$

$$LQ = 10\delta x \|b_k\| = 10\delta x \frac{1}{\hat{S}EN}$$

δx é o desvio padrão do sinal de referência, b_k é o vetor dos coeficientes de regressão no modelo PLS para a espécie k , $\hat{S}EN$ corresponde ao valor de sensibilidade.

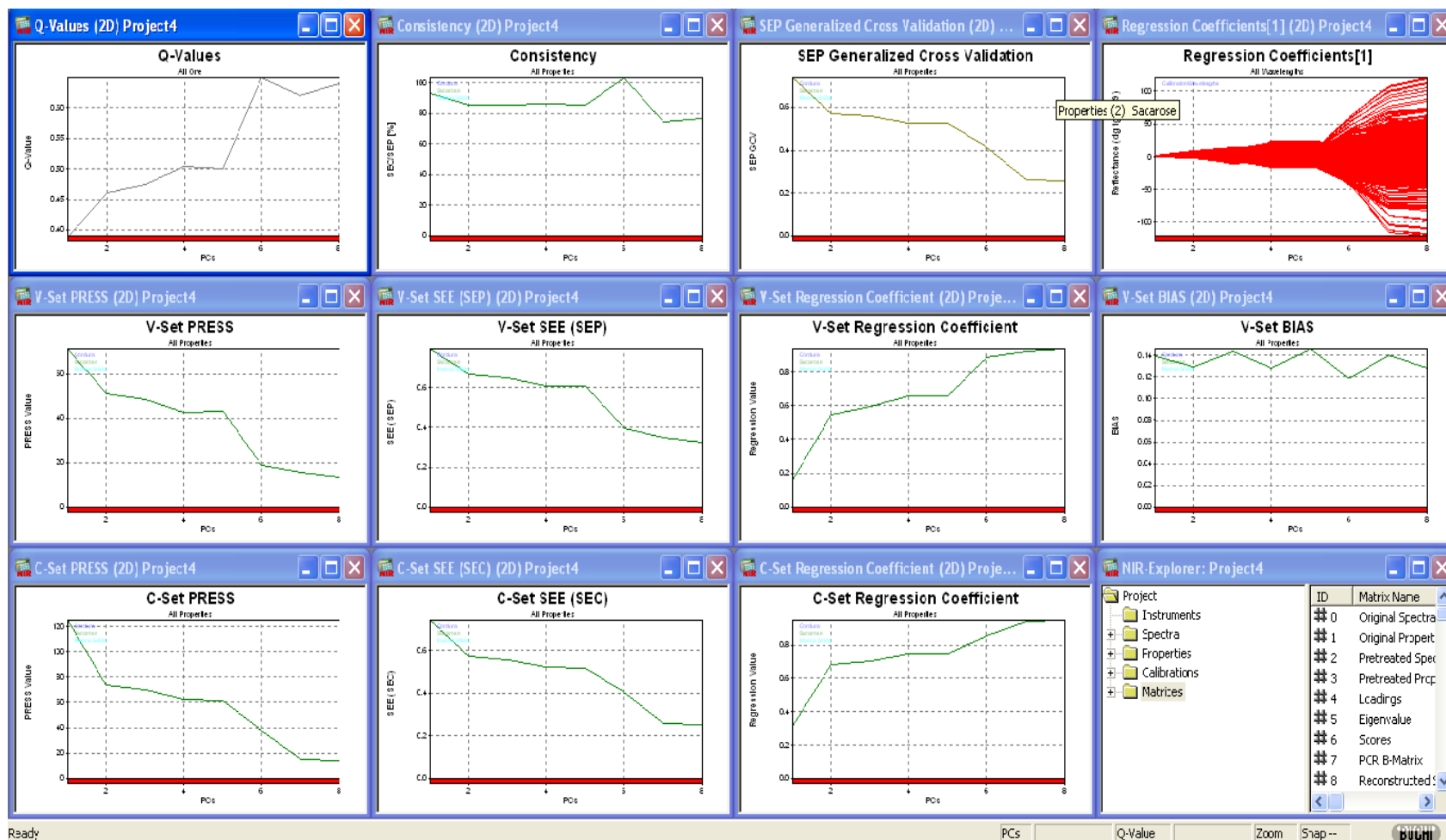
EXTENSÃO DA FAIXA DE TRABALHO



É estabelecida determinando a espécie de interesse em diferentes concentrações.

Através dos resultados obtidos, determina-se a faixa de concentração na qual os resultados apresentam um nível aceitável de incerteza para o método empregado.

NIRCal – visualização grafica de algumas figuras

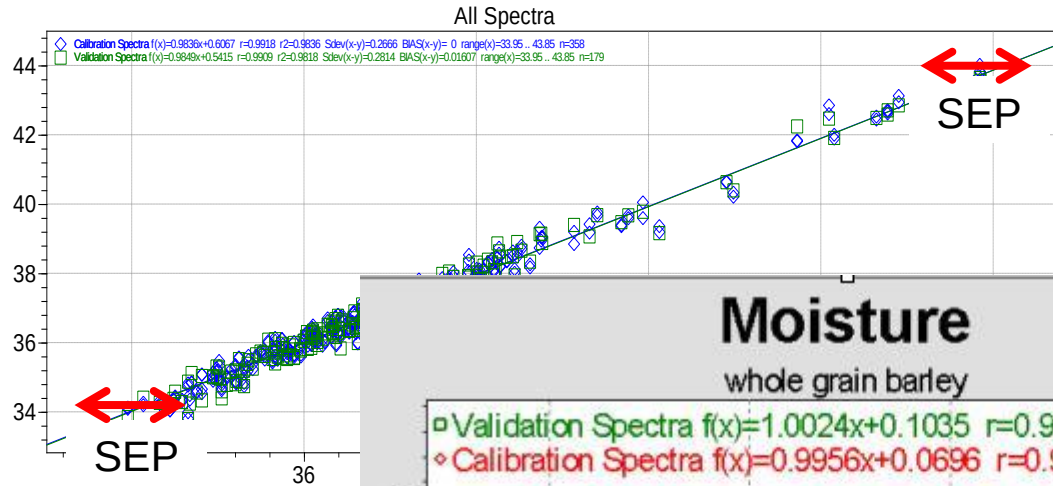


EXTENSÃO DA FAIXA DE TRABALHO



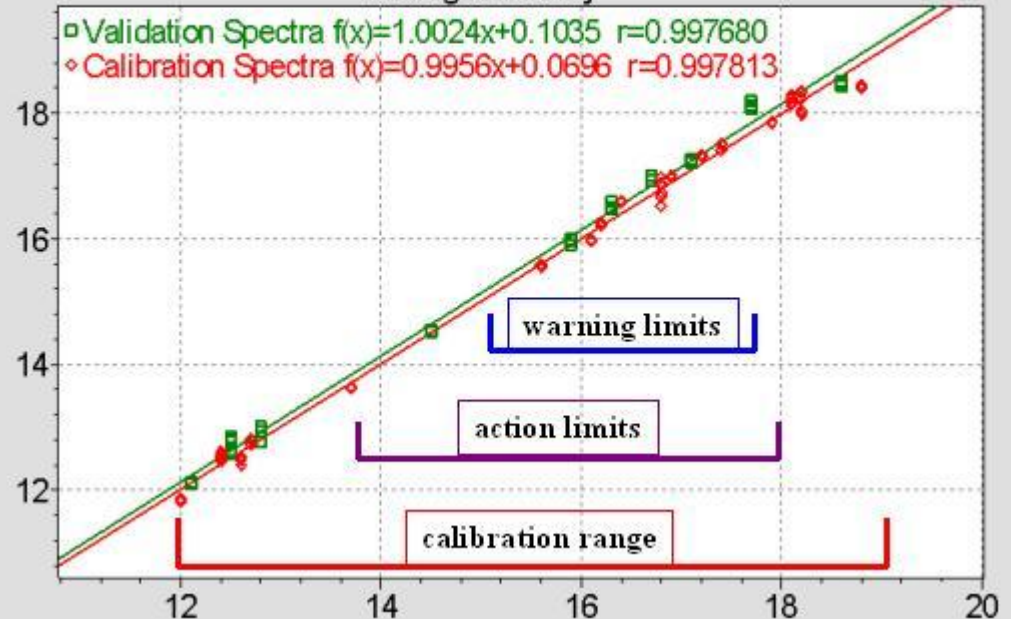
Predicted Property M o

Predicted Property vs. Original Property

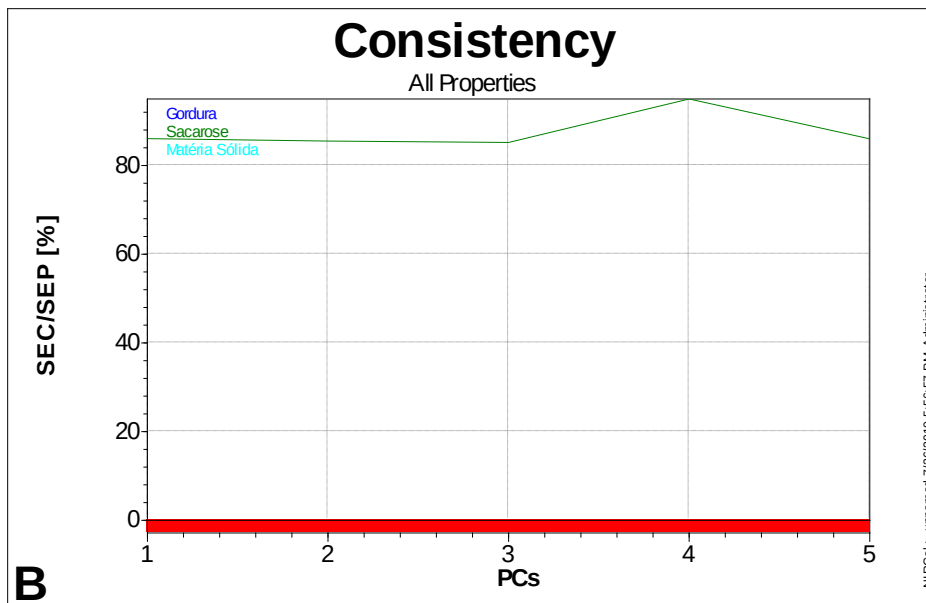


Moisture

whole grain barley



Consistencia



Este gráfico mostra a relação entre o desvio padrão do conjunto da calibração e validação

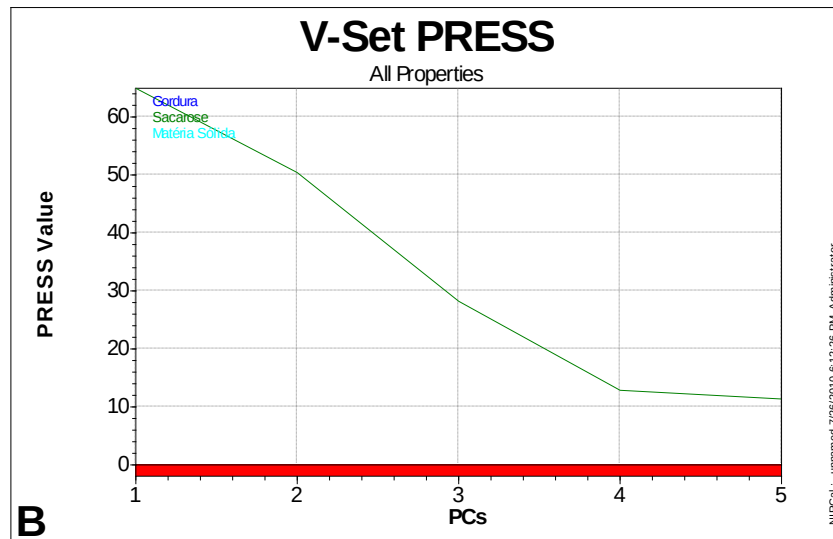
$$\text{Consistência} = \text{SEE/SEP} * 100$$

Em uma calibração estável os valores de SEE e SEP devem ser do nível do método de referência e semelhantes

aprox. 100 (80 – 110)

Valores de consistencia baixos indicam “overfitting”, geralmente porque foram utilizados muitas PCs.

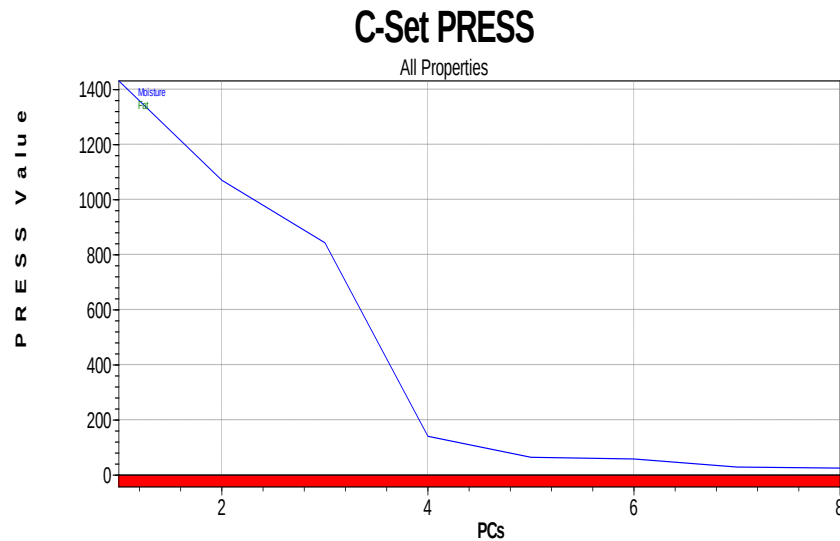
V-Set PRESS/ C-Set PRESS



PRESS: Prediction Residual Error Sum Square

$$PRESS = \sum_{n=1}^N (x_n - y_n)^2$$

Esta função calcula a soma quadrática dos erros em função do número de PCs. O termo “residual” se refere aqui como a diferença entre os valores preditos e os valores de referência.

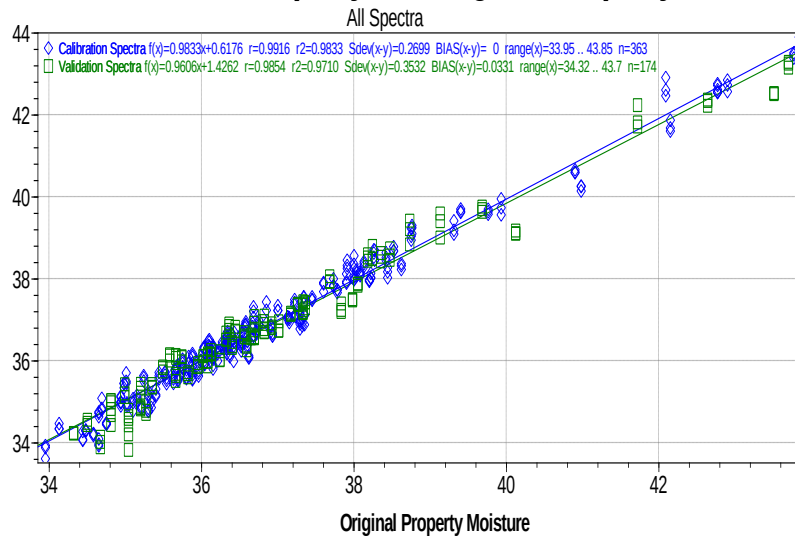


Predicted Property vs. Original Property



Predicted Property Moisture

Predicted Property vs. Original Property



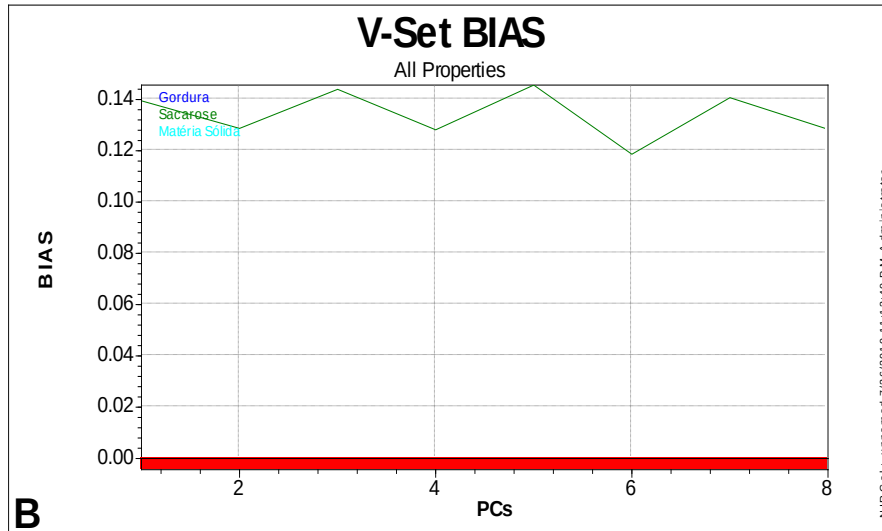
Indica a correlação de dados de calibração e validação. O coeficiente de correlação (r) mostra quanto, em média, os valores previstos se aproximam dos valores de referência.

Em um modelo ideal:

- As retas dos conjuntos calibração e validação são coincidentes
- SEP (validação) $\cong$ SEC (calibração)
- Coeficientes de correlação r / $r^2 \cong 1$
- Bias $\rightarrow 0$ (V-set)

$$r = \frac{\sum_n (x_n - \bar{x})(y_n - \bar{y})}{\sqrt{\sum_n (x_n - \bar{x})^2 \sum_n (y_n - \bar{y})^2}}$$

V-Set BIAS



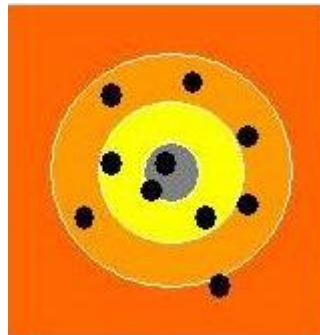
**Bias do conjunto de validação:
V-Set : es a medida da exatidão
do modelo.**

**Este valor deve ser o mais
próximo de zero possível**

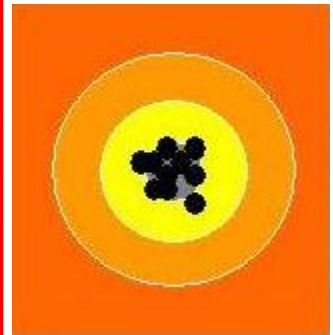
$$Bias = \frac{1}{N} * \sum (x_n - y_n)$$



**Preciso sem
exatidão**



**Exato sem
precisão**



**Preciso
e exato**

Cálculo do Q-Value

Value	Weights	Formula for value	General term	Aspects of a good calibration	Detail
wNum NotC	10	Number of C-Set spectra with Residual too big	Rejection of known	Rejection count of known should be 0	
wNum NotV	1	Number of V-Set spectra with Residual too big	Rejection of unknown	Rejection count of unknown should be 0	
wQa	2	Abs (SEE-SEP)/ (Abs(SEP)+1.0)	Relative Consistency	C-Set and V-Set should have similar low standard error of prediction	BIAS corrected
wQb	2	Abs (VsetBIAS)/ Abs(Range)	Weighted BIAS	The absolute V-Set BIAS should be low	
wQc	1	1-VsetRegr	Validity	The V-Set regression coefficient should be near 1	
wQd	1	Abs(CsetRegr-VsetRegr)	Comparability	C-Set and V-Set should have similar high regression	
wQe	1	SEP / Abs(Range)	Precision	The V-Set standard error of prediction should be low	BIAS corrected
wQf	1	Abs(RSS)/Abs(Range)	Weighted Accuracy	The V-Set Residual Sum of squares= RSS should be low	not BIAS corrected

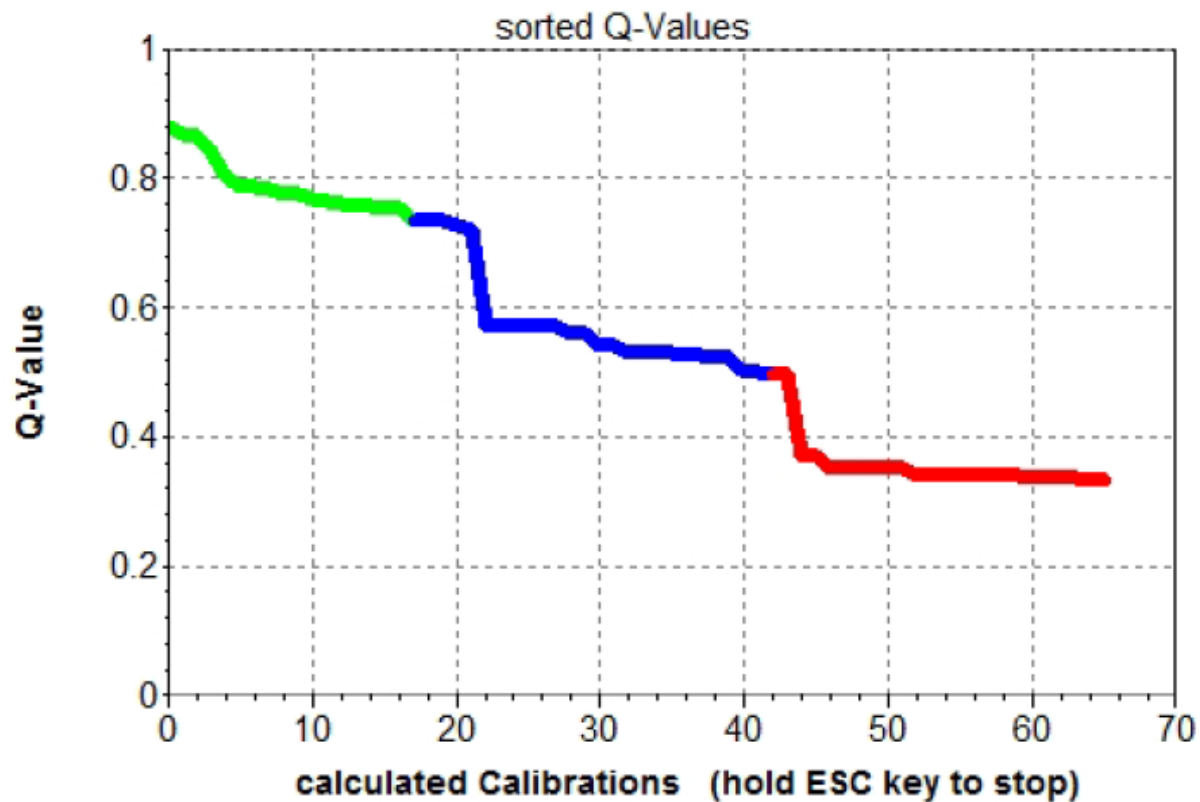
$$Q-Value = \frac{1}{1 + \sum_{i=1}^n w_i v_i}$$



Q-Value



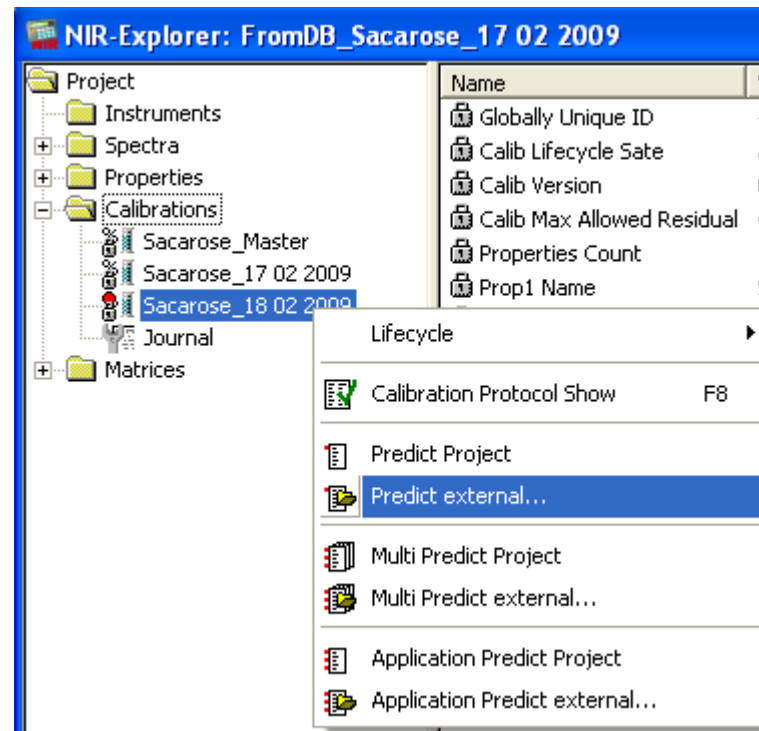
Calibration Q-Value Overview



Avaliação do Modelo



Para verificar o desempenho do modelo buscamos amostras externas (fora os conjuntos C e V-set), através da função *Predict External* e selecionamos os espectros destas amostras.



Avaliação do Modelo



O programa elabora um relatório que pode ser exportado/copiado como uma planilha Excel:

Prediction Protocol

Protocol Type
Creation User
Creation Date/Time
Creation Software
Project Name
Project Comment
Project GUID
Calibration Name
Calibration Comment
Calibration GUID
Calibration Version
Calibration Lifecycle State

Calibration Method
Calibration max allowed Residual

Calibration Properties
Sacarose [%]

Predict external
Administrator
7/27/2010 12:43:04 AM
NIRCal V5.2 (Build 3000)
Sacarose_17 02 2009

{171D1ED9-C684-4E14-B2EF-F9749F417E8E}
Sacarose_18 02 2009

{A13677D1-5EB7-42AE-958C-D5DBFB1AAEDF}
1
approved idle

quantitative
0.0013674

Min Max
44.2 47.59

Informaciones sobre la calibración

Resultados del Modelo con
muestras “externas”

>>> Data Source is Database

<<LoadSpectraFromDB>>

Spectra Name	No	Residual	Outlier Residual	Outlier Score	Outlier Property
FINAL	1	0.0007565			X
FINAL	2	0.0007639			X
FINAL	3	0.0007701			X
50%1842	4	0.0002247			
50%1842	5	0.0002206			
50%1842	6	0.0002194			
FINAL2109	7	0.0001368			
FINAL2109	8	0.0001443			
FINAL2109	9	0.0001531			
50%2213	10	0.0002116			
50%2213	11	0.0001786			
50%2213	12	0.0001417			
FINAL0038	13	0.0002109			
FINAL0038	14	0.0001882			
FINAL0038	15	0.0001645			

Predicted Sacarose [%]	Original Sacarose [%]
44.0074	44.8000
44.0223	44.8000
44.0232	44.8000
44.8844	44.8900
44.8622	44.8900
44.8668	44.8900
44.7870	44.8100
44.7645	44.8100
44.7812	44.8100
44.8274	44.5100
44.8489	44.5100
44.8535	44.5100
44.8153	44.7800
44.7852	44.7800
44.7785	44.7800

Options
Copy
Paste
Export Table...

Dúvidas ou Comentários?





Obrigada pela atenção!



Margarete de Koning
dekoning.m@buchi.com

Mariana Dias
dias.m@buchi.com