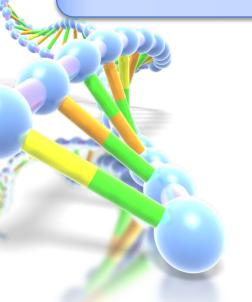


## Les 4 – Basis toetsen in R (1)

### **Emile Apol**





Institute for Life Science & Technology

### LES 3

- Meetschalen
- Beschrijvende statistiek in R
- Stappenplan (verschil)toetsen
- Overzicht statistische toetsen
- o *t*-toetsen
- F-toets

### **MEETSCHALEN**

- Variabelen kunnen worden ingedeeld in 1 van de 4 onderstaande meetschalen
  - Nominaal
  - Ordinaal
  - Interval
  - Ratio
- R heeft functies voor verschillende meetschalen

#### **NOMINALE SCHAAL**

- Kan gebruikt worden voor labels (nomen = "naam")
- Bijvoorbeeld subtypen kanker in micro array experiment
- Alleen modus kan hierop toegepast worden
  - Meest voorkomende waarde
- Een nominale variabele heet in R een factor
- Verschillende "labels" heten levels
  - Bijv. de factor geslacht heeft 2 levels: man en vrouw

### **ORDINALE SCHAAL**

- Ordinale variabele = nominale variabele maar met duidelijke volgorde van de levels
- Ordinale variabelen beschrijven alleen een volgorde, niet hoe groot het verschil is
  - Bijv. de ordinale variabele kwaliteit heeft als levels Beste, Goed, Redelijk, Slecht
- Je kan geen waarde geven aan het verschil tussen Goed en Beste.
- Naast de modus kan je ook de mediaan uitrekenen
  - Mediaan: middelste waarde in een gesorteerde lijst

#### INTERVAL SCHAAL

- De verschillende waarden hebben betekenis
- Er is geen echt nulpunt
- Bijvoorbeeld °C
- Verschil tussen 90°C en 100°C is gelijk aan verschil tussen 10°C en 20°C.
- Je kan optellen en aftrekken
- Je kan ook gemiddelde en SD uitrekenen.
- Je kan niet zeggen dat 20°C twee keer zo groot is als 10°C

### **RATIO SCHAAL**

- Er is wel een echt nulpunt
- Bijvoorbeeld graden Kelvin
  - Heeft echt nulpunt
  - 20K is 2 keer 10K
- Afstanden, energie, microarray meting

### **MEETSCHALEN - OVERZICHT**

Niveau	Kenmerkend	Volgorde	Verschillen	Nulpunt
Nominaal	•			
Ordinaal	•	•		
Interval	•	•	•	
Ratio	•	•	•	•

### **FACTOR**

- Factors in R kunnen gebruikt worden om variabelen in nominale of ordinale schaal op te slaan
- R kan er dan rekening mee houden dat ze in deze schalen staan
- Functies in R:
  - factor( )
  - as.factor( )

#### **FACTOR**

```
ogeneExp <- c(</pre>
   rnorm(100, mean = 5, sd = 1),
   rnorm(100, mean = 6, sd = 2)
o samples <- factor( c(</pre>
   rep("healthy", 100),
   rep("sick", 100)
o plot(geneExp ~ samples)
o plot(samples, geneExp)
```

random getallen  $N(\mu, \sigma)$ 

betekent "als functie van"

#### **FACTOR**

- Functies in R:
  - factor( )
  - as.factor( )
- De levels van de factor worden door R automatisch in alfabetische volgorde gezet (en dus ook in plot in die volgorde gezet!)
- Zelf aanpassen via optie levels binnen functie factor():

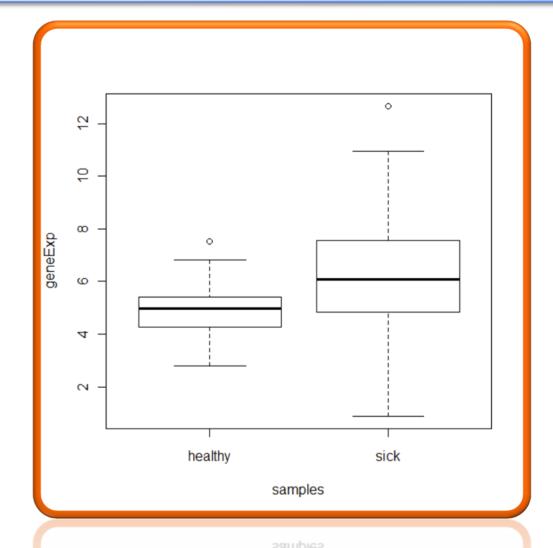
```
• g <- factor(c("B","B","A","A","B"))</pre>
```

```
[1] B B A A B Levels: A B
```

• g <- factor(c("B","B","A","A","B"),
 levels = c("B","A"))</pre>

```
[1] B B A A B Levels: B A
```

### **PLOT**



### STATISTIEK 1: BESCHRIJVENDE STATISTIEK

• Handige R functies voor beschrijvende statistiek:

```
mean() # gemiddelde
median( ) # mediaan
• var( ) # variantie s<sup>2</sup>
• sd( ) # standaarddeviatie s
• min( ) # minimum
max( ) # maximum
• quantile( )# kwantielen
• IQR( ) # interquantile range
• summary( ) # nuttige samenvatting
hist() # histogram
boxplot( ) # boxplot
```

# Herhaalde meting

- Gemiddelde (→ bias)
- Spreiding (→ precisie)

histogram

som van i = 1t/m i = n

$$\overline{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} y_i$$

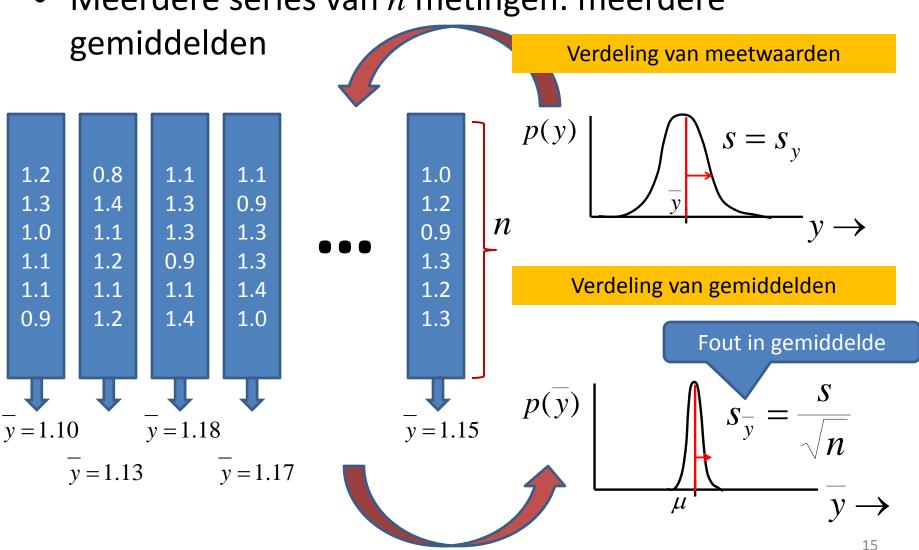
$$s^{2} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (y_{i} - \overline{y})^{2}$$





# Gemiddelde en fout in gemiddelde

• Meerdere series van *n* metingen: meerdere



# Fout in gemiddelde $s_{\overline{y}}$

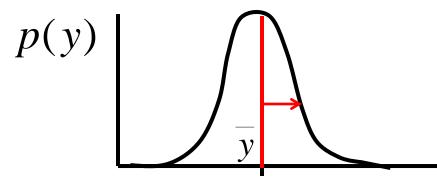
- De fout in het gemiddelde = standaarddeviatie van de kansverdeling van gemiddelden...
- Voor de berekening van deze fout hoeven we niet vele meetseries te doen, maar slechts 1 serie met n metingen:

serie met n metingen:  $S_{\overline{y}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$ Standaarddeviatie van n metingen

van *n* metingen

# Gemiddelde, fout in gemiddelde

Verdeling van meetwaarden

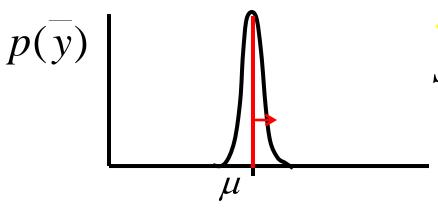


standaarddeviatie

$$s = s_y$$

 $y \rightarrow$ 

Verdeling van gemiddelde



fout in gemiddelde

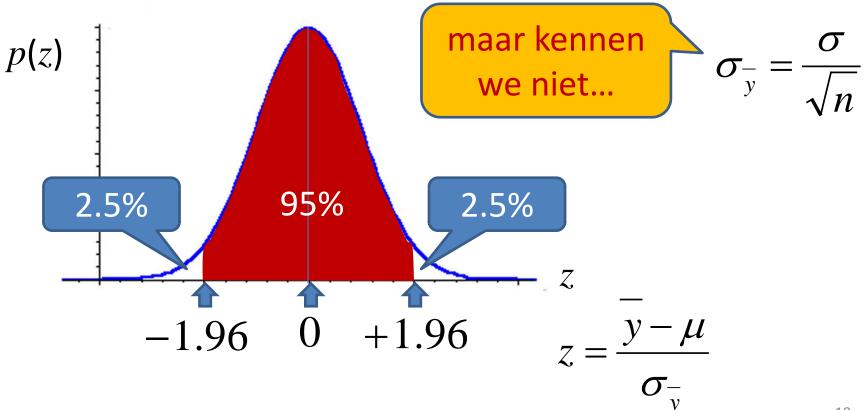
$$S_{\overline{y}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

# Verdeling gemiddelde: t-verdeling

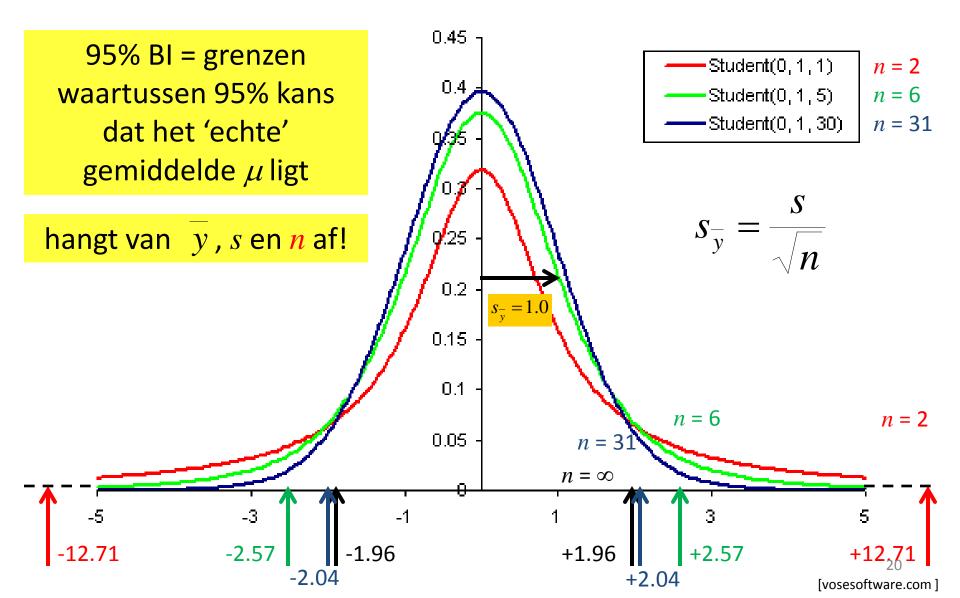
#### 0.45Meer data (n groot): $p(t)_{0.4}$ Student(0, 1, 1) n = 2verdeling smaller n = 6Student(0, 1, 5) n = 31·Student(0, 1, 30) minder onzekerheid Minder data (n klein): verdeling breder meer onzekerheid 0.2 0.15 0.1 William Sealy Gosset 0.05

### Betrouwbaarheidsinterval: z-verdeling

Vraag: als de kansverdeling van gemiddelden een normaalverdeling zou zijn, in welk interval van waarden heb ik 95% kans dat het echte gemiddelde  $\mu$  ligt?



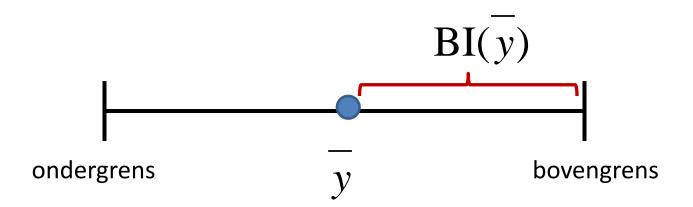
## Betrouwbaarheidsinterval: t-verdeling



# 95% Betrouwbaarheidsinterval (BI)

$$\frac{1}{y} \pm BI(\frac{1}{y})$$

$$BI(y) = t_{n-1}^{0.05} \cdot s_{\bar{y}}$$



# 95% Betrouwbaarheidsinterval (BI)

95% BI (Engels: Confidence Interval, CI):

$$\frac{1}{y} \pm t_{n-1}^{0.05} \times s_{\overline{y}} = \frac{1}{y} \pm t_{n-1}^{0.05} \times \frac{s}{\sqrt{n}}$$

t-waarde, zie Miller & Miller, Tabel A.2

NB. De waarde n-1 heet het aantal vrijheidsgraden (degrees of freedom, df)

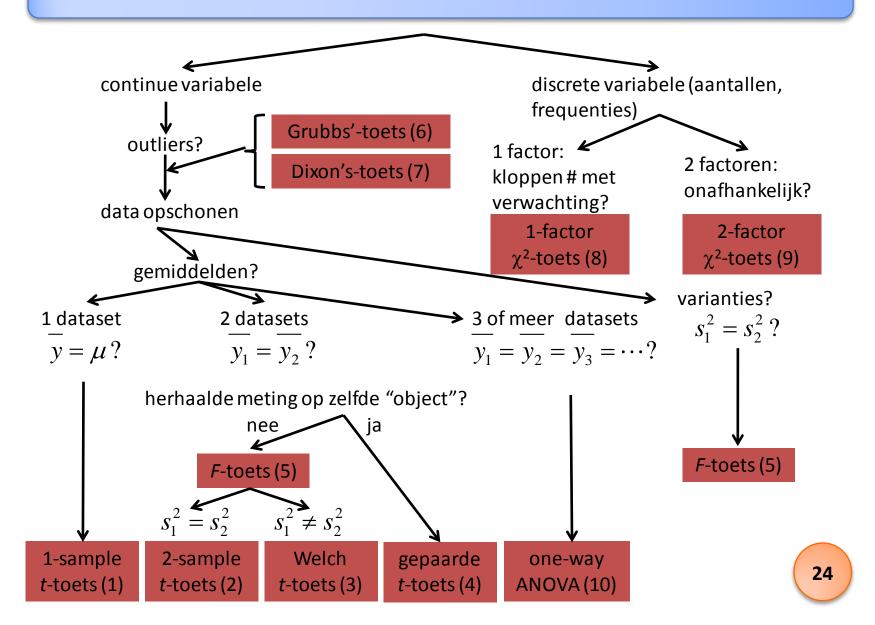
### STATISTIEK 2: STAPPENPLAN (VERSCHIL)TOETSEN

- Formuleer de vraag helder
- 2. Kies op basis van de soort data de juiste toets
- Formuleer nul-hypothese H<sub>0</sub> ("alles is gelijk")
- 4. Formuleer op basis van je vraag (achtergrond informatie) de alternatieve hypothese H<sub>1</sub> (of H<sub>A</sub>)
  - 1-zijdig toetsen
  - 2-zijdig toetsen
- 5. Voer de toets uit: significant?

"kans dat H
$$_{\scriptscriptstyle 0}$$
 waar is"  $p < 0.05 = lpha$ 

Formuleer de conclusie in woorden

### STATISTIEK 2: BESLISSCHEMA



### BASALE TOETSEN IN R

t-toets (verschil tussen 2 gemiddelden?) • t.test( ) F-toets (verschil tussen 2 varianties?) var.test( ) 1-way ANOVA (verschil tussen ≥ 2 gemiddelden?) • aov( ) o chi2-toets (aantalen: relatie tussen 2 nominale variabelen?) • chisq.test( ) z-toets (standaard normaal verdeeld)

z.test() # in package: Teaching Demos

### BASALE TOETSEN IN R

- Grubbs' en Dixon toets (waarde is uitbijter?):
  - grubbs.test( ) # in package:outliers
  - dixon.test( ) # in package:outliers

#### **T-TOETSEN**

### Als

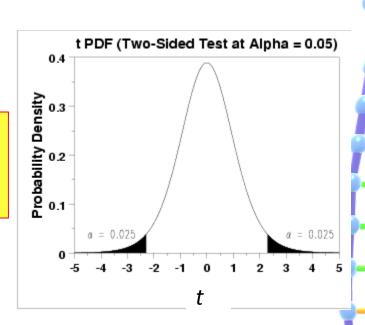
- je verwacht dat twee gemiddelden gelijk zijn (H<sub>0</sub>)
- de random fouten normaal verdeeld zijn

#### dan

is de grootheid (statistiek)

$$t = \frac{\text{verschil tussen gemiddelden}}{\text{fout in verschil}}$$

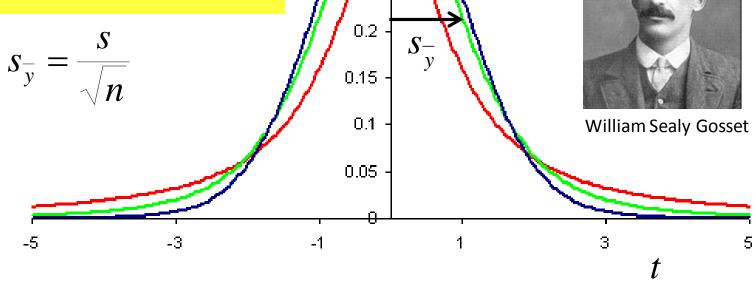
t-verdeeld, met d.f. vrijheidsgraden



### (STUDENT'S) T-VERDELING

### Meer data (*n* groot):

- verdeling smaller
- minder onzekerheid Minder data (*n* klein):
- verdeling breder
- meer onzekerheid



0.45

 $p(t)_{0.4}$ 

n = 2

n = 6

n = 31

Student(0,1,1)

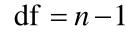
Student(0, 1, 5)

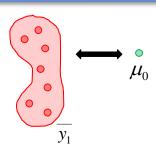
•Student(0, 1, 30)

### T-TOETSEN: 1-SAMPLE, 2-SAMPLE, WELCH T-TOETS

One-sample *t*-toets:

$$t = \frac{\overline{y_1} - \mu}{S\sqrt{\frac{1}{n}}}$$





• Two-sample *t*-toets:

$$t = \frac{\overline{y_1} - \overline{y_2}}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

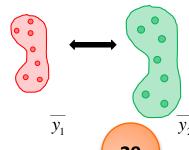
$$\mathrm{df} = n_1 + n_2 - 2$$

 $s_p^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ 

• Welch *t*-toets:

$$t = \frac{\overline{y_1} - \overline{y_2}}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$df = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2 + \left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}$$



### T-TOETSEN IN R: 1-SAMPLE, 2-SAMPLE, WELCH T-TOETS

- Twee vectoren y1 en y2 met continue waarden (interval/ratio):
  - y1 < -c(1, 2, 5, 4, 2)
  - y2 < -c(4, 5, 8, 6, 7)
- O Uitvoeren van t-toetsen:
- One-sample *t*-toets:
  - t.test(y1, mu = 5.0)
- Two-sample *t*-toets:
  - t.test(y1, y2 , var.equal=T)
- Welch *t*-toets:
  - t.test(y1, y2)

### T-TOETSEN: 1- OF 2-ZIJDIG

Hangt van vraagstelling (en/of voorkennis) af:

Zijn twee waarden significant verschillend?
 Je weet niet welke kant het verschil gaat

2-zijdig

Is de ene waarde hoger/lager/beter/slechter/... dan de andere waarde?

Je hebt een sterk vermoeden welke kant het verschil gaat

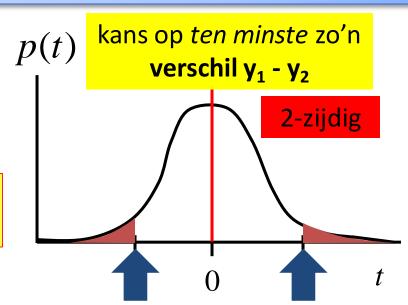
1-zijdig

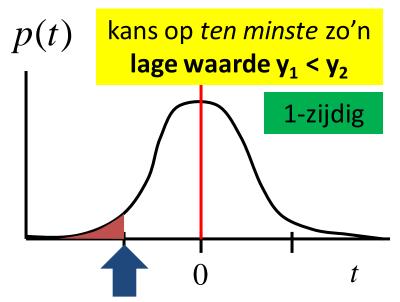
Dit wordt dus bepaald door H<sub>1</sub>!

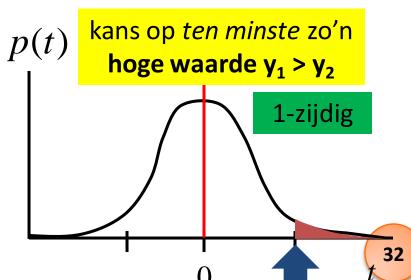
### T-TOETSEN: 1- OF 2-ZIJDIG

1- of 2-zijdige kansen?

$$t = \frac{\text{verschil tussen gemiddelden}}{\text{fout in verschil}}$$







### T-TOETSEN IN R: 1- OF 2-ZIJDIG

 Vraag: is gemiddelde van y1 anders dan van y2 (μ)? 2-zijdig toetsen  $y_1 \neq y_2$ t.test(y1, y2, ..., alternative = "two.sided") #default t.test(y1, y2, ...) • Vraag: is gemiddelde van y1 *lager* dan van y2  $(\mu)$ ? 1-zijdig toetsen t.test(y1, y2, ...,  $y_1 < y_2$ alternative = "less")  $\circ$  Vraag: is gemiddelde van y1 *hoger* dan van y2 ( $\mu$ )? 1-zijdig toetsen  $y_1 > y_2$ t.test(y1, y2, ..., alternative = "greater")

#### T-TOETSEN IN R: 2 VECTOREN OF VECTOR + FACTOR

- o Data: twee vectoren y1 en y2 met continue waarden (interval/ratio):
  - y1 < -c(1, 2, 5, 4, 2)
  - y2 < -c(4, 5, 8, 6, 7)
- Uitvoeren van t-toets:
  - t.test(y1, y2, ...)
- Data: vector y met continue waarden en vector sample met labels (= factor):
  - y < -c(1,2,5,4,2,4,5,8,6,7)
  - sample <- factor(c(rep(1,5),rep(2,5)))</pre>
- O Uitvoeren van t-toets:
  - t.test(y ~ sample, ...)

  - t.test(y[sample==1], y[sample==2], ...)

"model formule"

### T-TOETSEN IN R: VECTOR + FACTOR

- Bij gebruik van een model formule als
  - y ~ sample

in 1-zijdige toets moet je bedenken dat R de levels in sample in *logische volgorde* neemt, dus

- sample <- c(1, 2, 1, 1, 2, 2) geeft groepen "1" en "2"
- sample <- c(2, 2, 1, 2, 1, 1) geeft groepen "1" en "2"
- sample <- c("low,"low","high","high")
  geeft groepen: "high" en "low"</pre>

H<sub>1</sub>: 1<sup>e</sup> groep "less"/"greater" 2<sup>e</sup> groep

#### T-TOETSEN IN R: VECTOR + FACTOR

- Als factor uit meer dan 2 levels bestaat: gebruik subset
  - y < -c(0.15, 0.21, 0.13, 0.15, 0.16, 0.17)
  - sample <- c("a","a","b","b","c","c")</pre>
- 2-sample *t*-toets tussen groepen "a" en "b":
  - t.test(y[sample=="a"],
     y[sample=="b"], var.equal=T)
  - t.test(y ~ sample, var.equal=T,
    subset=(sample=="a" | sample=="b")
  - t.test(y ~ sample, var.equal=T,
    subset=(sample != "c") )

Veel functies in R, zoals t.test, var.test, aov, lm, chisq.test etc., kunnen werken met **subset**!

# T-TOETSEN IN R: DATAFRAMES (1)

- Twee soorten dataframes:
  - data1 <- data.frame(y1, y2)</li>
  - data2 <- data.frame(y, sample)</li>
  - rm(y1, y2, y, sample) # uit Workspace
- Zonder attachen van data1 of data2:
  - t.test(y ~ sample, data=data2)
- Met attachen van data1 of data2:
  - attach(data1)
  - attach(data2)
  - t.test(y1, y2)
  - t.test(y ~ sample)
  - detach(data1)
  - detach(data2)

Werkt alleen met de "formule" manier ~

# T-TOETSEN IN R: DATAFRAMES (2)

- O Zonder attachen, met gebruik van de functie with( ):
  - with(data=data.1, t.test(y1,y2,...))
  - with(data=data.2, t.test(y~sample,...))

# "SCOPE" VAN VARIABELEN IN R

- R heeft een search path voor objecten/variabelen:
  - search()

```
> search()
     ".GlobalEnv"
                                                                     "package:splines"
                           'package:VGAM"
                                                "package:stats4"
                                                                     "tools:rstudio"
     "package:mvtnorm"
                           "genExpr.2"
                                                "genExpr.1"
     "package:stats"
                                                "package:grDevices"
                                                                     "package:utils"
                           "package:graphics"
                                                "Autoloads"
                                                                     "package:base"
     "package:datasets"
                           'package:methods"
```

- R zoekt vanaf begin van deze lijst totdat object gevonden is.
- Volgorde:
  - 1<sup>e</sup> positie: altijd .GlobalEnv
  - laatste positie: altijd package:base
  - 2<sup>e</sup> positie: altijd laden nieuw package / attachen dataframe

variabelen

## TYPE I EN TYPE II ERRORS

Onderscheid tussen Type I en Type II errors



#### T-TOETSEN IN R

```
t.test(y1, y2, var.equal=T)

Two Sample t-test

data: y1 and y2
t = -3.1379, df = 8, p-value = 0.01385
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
    -5.551672 -0.848328
sample estimates:
mean of x mean of y
    2.8    6.0
```

Zijn beide gemiddelden gelijk?

#### T-TOETSEN IN R

Nee, beide gemiddelden verschillen significant, want p < 0.05

#### T-TOETSEN IN R: OUTPUT

- De uitvoer van t.test( ) is een list met allerlei nuttige gegevens:
  - testOut <- t.test(y1, y2)</pre>
  - str(testOut)
- Elementen van uitvoer:

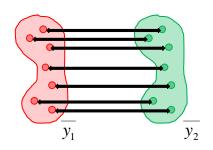
Element	Betekenis	Element	Betekenis
\$statistic	waarde t	\$null.value	verwacht verschil
\$parameter	df	\$alternative	1- of 2-zijdig
\$p.value	<i>p</i> -waarde	\$method	soort <i>t</i> -toets
\$conf.int	BI van verschil	\$data.name	data
\$estimate	gemiddelden		

#### T-TOETSEN: GEPAARDE T-TOETS

# • Gepaarde *t*-toets:

$$t = \frac{\overline{d} - 0}{S_d \sqrt{\frac{1}{n_d}}}$$

$$df = n_d - 1$$



met

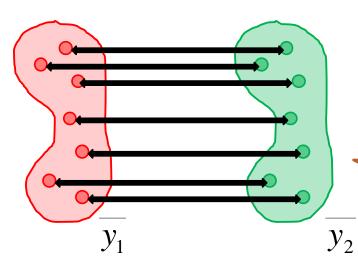
$$d_{i} = y_{1,i} - y_{2,i}$$

en  $n_d$  = aantal paren,  $s_d$  = standaard deviatie van verschillen  $d_i$ 

- OGebruik:
  - weg filteren van extra ruisfactor(bijv. natuurlijke verschillen tussen proefpersonen/samples/etc.
  - = block ANOVA voor 2 groepen

#### T-TOETSEN IN R: GEPAARDE T-TOETS

- Voor gepaarde data (bijv. herhaalde meting bij verschillende patiënten onder 2 omstandigheden):
  - t.test(y1, y2, paired=T)
  - t.test(y ~ sample, paired=T)



Beide groepen moeten evenveel data bevatten!

Met een gepaarde *t*-toets filter je extra ruis uit je signaal!

## **F-TOETS**

## Als

• twee variabelen normaal verdeeld zijn:  $N(\mu_1, \sigma_1)$  en  $N(\mu_2, \sigma_2)$ 

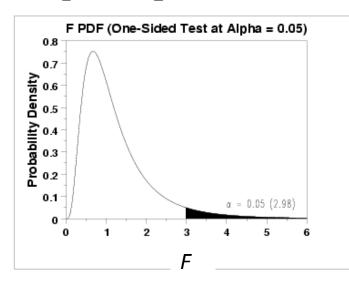
• je verwacht dat beide varianties  $\sigma_1^2$  en  $\sigma_2^2$  gelijk zijn

 $(H_0)$ 

## dan

is de grootheid (statistiek)

$$F = \frac{s_{\mathrm{A}}^2}{s_{\mathrm{B}}^2} \qquad s_{\mathrm{A}}^2 > s_{\mathrm{B}}^2$$



F-verdeeld, met df1 en df2 vrijheidsgraden

- Vraag: is variantie van y1 anders dan variantie van y2?
   2-zijdig
  - var.test(y1, y2)
  - var.test(y ~ sample)

Gebruik je o.a. om te kiezen tussen 2-sample en Welch *t*-toets!

- Vraag: is variantie van y1 groter dan van y2?1-zijdig
  - var.test(y1, y2, alternative="greater")
- Vraag: is variantie van y1 kleiner dan van y2?1-zijdig
  - var.test(y1, y2, alternative="less")

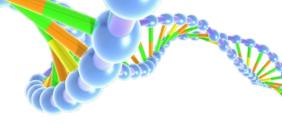
Zijn beide varianties gelijk?

```
> var.test(y1,y2)
F test to compare two variances
data: y1 and y2
F = 1.08, num df = 4, denom df = 4, p-value = 0.9423
alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
95 percent confidence interval:
  0.1124469 10.3728923
sample estimates:
ratio of variances
             1.08
         Ja, beide varianties zijn gelijk, want
```

p > 0.05

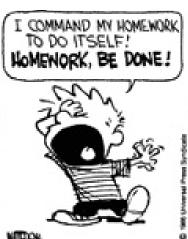
Ja, beide varianties zijn gelijk, want p > 0.05

"Beide varianties zijn niet significant ongelijk"

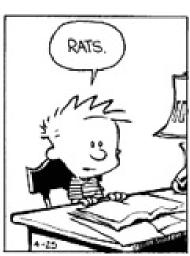


# Jullie kunnen nu (een deel van) de opdrachten van les 3 maken











Institute for Life Science & Technology