

---

---

**Молоко. Определение и оценка общей  
точности альтернативных методов  
анализа молока.**

Часть 3.

**Протокол оценки и валидации  
альтернативных количественных  
методов анализа молока**

*Milk — Definition and evaluation of the overall accuracy of alternative  
methods of milk analysis —*

*Part 3: ISO 8196-3:2009*

*Protocol for the evaluation and validation of alternative quantitative  
methods of milk analysis 2009*

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R  
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера  
ISO 8196-3:2009(R)  
IDF 128-3:2009(R)

**Отказ от ответственности при работе в PDF**

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на установку интегрированных шрифтов в компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe — торговый знак Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами – членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просим информировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 8196-3:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0136cd5-68ba-45ef-bb84-b850d07e2376/iso-8196-3-2009>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO и IDF 2009

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO или IDF, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

International Dairy Federation  
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels  
Tel. + 32 2 733 98 88  
Fax + 32 2 733 04 13  
E-mail [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
Web [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие .....	iv
Предисловие .....	v
Введение .....	vi
1 Область применения .....	1
2 Нормативные ссылки .....	1
3 Термины и определения .....	2
4 Общие принципы валидации альтернативных методов .....	3
4.1 Протокол валидации.....	3
4.2 Область действия утверждения.....	4
5 Технический протокол валидации .....	4
5.1 Последовательность действий .....	4
5.2 Сравнительное исследование методов .....	4
5.3 Передача отчета и утверждения (альтернативного метода) .....	18
Приложение А (информативное) Процесс измерения и общая точность .....	20
Приложение В (информативное) Пределы характеристик эффективности метода на сыром молоке.....	21
Приложение С (информативное) Примеры расчетов .....	24
Приложение D (информативное) Краткий обзор статистических формул для оценивания методов .....	39
Приложение E (информативное) Процедура подготовки набора проб для оценки линейности .....	43
Библиография.....	47

## Предисловие

**Международная организация по стандартизации (ISO)** является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в этой работе. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Проекты международных стандартов разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов — разработка международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что, возможно, некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за определение некоторых или всех таких патентных прав.

ISO 8196-3|IDF 128-3 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочной промышленности (IDF). Стандарт опубликован ISO совместно с IDF.

ISO 8196|IDF 128 состоит из следующих частей под общим заголовком *Молоко. Определение и оценка общей точности альтернативных методов анализа молока*:

- *Часть 1. Аналитические признаки альтернативных методов*
- *Часть 2. Калибровка и контроль качества в лаборатории по анализу молочной продукции*
- *Часть 3. Протокол оценки и валидации альтернативных количественных методов анализа молока*

## Предисловие

**Международная федерация молочной промышленности (IDF)** является всемирной федерацией предприятий молочной отрасли, каждый член которой представлен в ней своим национальным комитетом. Каждый национальный комитет имеет право быть представленным в постоянных комитетах IDF, осуществляющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO и AOAC International по вопросам разработки стандартных методов анализа и отбора проб молока и молочных продуктов.

Проекты международных стандартов, принятые постоянными комитетами и рабочими группами, рассылаются национальным комитетам для голосования. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50 % национальных комитетов IDF, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что, возможно, некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за определение некоторых или всех таких патентных прав.

ISO 8196-3|IDF 128-3 был разработан Международной федерацией молочной промышленности (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*. Он публикуется совместно ISO и IDF

Вся работа была выполнена Совместной рабочей группой IDF-ISO по *Автоматизированным методам* Постоянного комитета по *Контролю качества, статистике данных анализа и отбору проб* под эгидой руководителя проекта, г-на О. Лерея (FR).

Настоящее издание ISO 8196-3|IDF 128-3, наряду с ISO 8196-1|IDF 128-1 и ISO 8196-2|IDF 128-2, отменяет и заменяет IDF 128:1985, который прошел технический пересмотр.

ISO 8196|IDF 128 состоит из следующих частей под общим заголовком *Молоко. Определение и оценка общей точности альтернативных методов анализа молока*:

- *Часть 1. Аналитические признаки альтернативных методов*
- *Часть 2. Калибровка и контроль качества в лаборатории по анализу молочной продукции*
- *Часть 3. Протокол оценки и валидации альтернативных количественных методов анализа молока*

## Введение

Настоящая часть ISO 8196|IDF 128 является дополнительной к ISO 8196-1|IDF 128-1. В ней описывается протокол оценивания новых альтернативных методов, к которым невозможно применить ISO 8196-1|IDF 128-1, например, если организация межлабораторных испытаний затрудняется ввиду недостатка новых приборов, имеющихся для исследований.

Последнее обычно происходит со специальными инструментальными методами (например, анализ оплаты молока, анализ оформления документации на молоко), коммерциализация которых зависит от официального утверждения для применения. Заявление на такое официальное утверждение должно сопровождаться одной или несколькими оценками соответствующих характеристик метода.

Настоящая часть ISO 8196|IDF 128 устанавливает гармонизированный протокол для такого метода валидации в лаборатории экспертиз. В документе перечислены этапы оценивания, представлен подход и критерии оценки рабочих характеристик методов, включая руководство по проверке статистического соответствия.

На основе такого гармонизированного протокола для принятия решения об утверждении метода либо национальными органами, либо международной организацией для применения этого метода и/или оборудования в их секторе будет достаточно определенного числа оценок. Приводится пример оценивания метода по определению содержания жира, белка, лактозы, мочевины и подсчету соматических клеток в молоке.

(standards.iteh.ai)

ISO 8196-3:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0136cd5-68ba-45ef-bb84-b850d07e2376/iso-8196-3-2009>

# Молоко. Определение и оценка общей точности альтернативных методов анализа молока.

## Часть 3.

# Протокол оценки и валидации альтернативных количественных методов анализа молока

## 1 Область применения

В настоящей части ISO 8196|IDF 128 устанавливается протокол оценивания и валидации альтернативных количественных методов анализа молока.

Этот протокол применим ко всем компонентам молока, включая соматические клетки. Для определения микробиологических параметров применяются другие стандарты, например, ISO 16140<sup>[5]</sup>. Настоящая часть ISO 8196|IDF 128 также применима к валидации новых альтернативных методов, для которых недостаточное число аналитиков не позволяет организовать межлабораторные испытания и поэтому ISO 8196-1|IDF 128-1 применить невозможно.

Настоящая часть ISO 8196|IDF 128 также устанавливает общие принципы процедуры апробирования на международном уровне таких альтернативных методов. Эти принципы основаны на протоколе валидации, определенном в данной части ISO 8196|IDF 128.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие нормативные документы необходимы для применения настоящего международного стандарта. Для жестких ссылок применяется только то издание, на которое дается ссылка. Для плавающих ссылок применяется самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 3534-1, *Статистика. Словарь и обозначения. Часть 1: Общие статистические термины и термины, используемые в отношении вероятности*

ISO 5725-1, *Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 1: Общие принципы и определения*

ISO 8196-1|IDF 128-1, *Молоко. Определение и оценка общей точности альтернативных методов анализа молока. Часть 1: Аналитические признаки альтернативных методов*

ISO 8196-2|IDF 128-2, *Молоко. Определение и оценка общей точности альтернативных методов анализа молока. Часть 2: Калибровка и контроль качества в лаборатории по анализу молочной продукции*

ISO 9622, *Молоко цельное. Определение содержания молочного жира, белка и лактозы. Руководство по эксплуатации приборов, работающих в средней инфракрасной области спектра*<sup>1)</sup>

1) Эквивалентно IDF 141.

ISO/IEC 17025, *Общие требования к компетенции испытательных и калибровочных лабораторий*

### 3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются термины и определения, приведенные в ISO 8196-1|IDF 128-1, ISO 8196-2|IDF 128-2, ISO 3534-1 и ISO 5725-1, а также следующие.

**3.1**  
**валидация альтернативного метода**  
**validation of an alternative method**  
демонстрация сопоставимости результатов, полученных альтернативным методом, с результатами, полученными стандартным методом, показывая, таким образом, соответствие точности альтернативного метода определенным требованиям и его пригодности для рассматриваемой задачи

**3.2**  
**измеряемая величина**  
**measurand**  
компонент  
component  
анализируемое вещество  
analyte  
показатель  
criterion  
определенная величина или характерный объект измерения

ПРИМЕРЫ Измеряемой величиной может быть компонент молока, физическая характеристика или биологический элемент.

ПРИМЕЧАНИЕ Взято из ISO/IEC Guide 99:2007<sup>[8]</sup>, 2.6.

**3.3**  
**количественный метод**  
**quantitative method**  
метод анализа, результатом которого является количество или объем, концентрация или значение **измеряемой величины** (3.2), определенное либо напрямую, либо на пробе для анализа

**3.4**  
**сравнительное исследование методов**  
**methods comparison study**  
исследование, выполненное лабораторией-организатором, альтернативного метода по сравнению со стандартным методом в условиях проведения стендового испытания

**3.5**  
**исследование с целью подтверждения метода**  
**method confirmation study**  
исследование, выполняемое в обычных лабораториях, альтернативного метода с целью подтверждения результатов, полученных в проведенном до этого **сравнительном исследовании методов** (3.4)

**3.6**  
**межлабораторное исследование**  
**interlaboratory study**  
исследование работы альтернативного метода на одной или нескольких "идентичных" лабораторных пробах гомогенного стабильного материала в указанных в протоколе условиях в нескольких лабораториях под контролем **лаборатории-организатора** (3.7)

### 3.7

#### **лаборатория-организатор organizing laboratory**

лаборатория, имеющая квалифицированный штат и оборудование для выполнения **сравнительного исследования методов** (3.4)

### 3.8

#### **утверждение (аттестация) на национальном уровне national approval**

разрешение на использование метода для определенных целей в стране — обычно ввиду коллективного интереса и/или официального характера — выдаваемое официальным органом

### 3.9

#### **утверждение (аттестация) на международном уровне**

разрешение на использование метода для определенных целей на международном уровне — обычно ввиду коллективного интереса и/или официального характера — выдаваемое международной организацией в пользу заинтересованных сторон

## **4 Общие принципы валидации альтернативных методов**

### **4.1 Протокол валидации**

#### **4.1.1 Общие положения**

Протокол валидации включает два этапа в соответствии с 4.1.2 и 4.1.3.

#### **4.1.2 Этап I**

Сравнительное исследование методов включает оценку аналитических признаков и сопоставление альтернативного метода и стандартного метода в условиях стендового испытания. Данная часть оценивания должна выполняться лабораторией-организатором, специализирующейся на аналитической оценке и имеющей опыт в применении соответствующего стандартного метода. По своей деятельности такая лаборатория должна соответствовать ISO/IEC 17025.

#### **4.1.3 Этап II**

Исследование с целью подтверждения метода в традиционных лабораторных условиях проводится после успешного завершения Этапа I. Рекомендуется исследовать не менее двух контрольно-измерительных приборов, которые располагают в разных лабораториях в традиционных условиях испытания в течение периода не менее двух месяцев. Необходимо следить, чтобы на каждом приборе уровень изменчивости испытываемой пробы соответствовал обычно ожидаемому в течение периода испытания. Каждый прибор должен выполнять требования повседневного контроля качества, установленные в ISO 8196-2|IDF 128-2 путем проверки соответствия результатов значению общей точности, полученное на Этапе I. Альтернативный метод также рекомендуется оценить с точки зрения общих аспектов, таких как скорость, расходуемые материалы, удобство пользователя, безопасность и корректность.

#### **4.1.4 Утверждение на национальном уровне**

На основе содержания представленных отчетов национальные органы могут разрешить использование альтернативного метода для определенных задач. Соответствие требованиям, установленным в данном протоколе, обеспечивает гарантию достаточного качества результатов измерения и сопоставимость с другими методами и/или приборами подобного типа, прошедших валидацию в другом месте по аналогичному протоколу.

#### 4.1.5 Утверждение на международном уровне

Международные организации могут утвердить метод на международном уровне, например, для международного учета (оформлению документации) молока, или для соответствия многокритериальному подходу. Ряд успешных отдельных валидаций (т.е. на национальном уровне), представленных в стандартизованном порядке, может обеспечить достаточное доверие к работе нового альтернативного метода и заменить межлабораторные исследования. Общее оценивание должно успешно пройти в ряде различных стран (определенный минимум). Рекомендуется выполнить три независимые валидации.

#### 4.2 Область действия утверждения

4.2.1 Утверждение можно получить только при выполнении условий 4.2.2 и 4.2.3.

4.2.2 Оценивают область, в которой применяются приборы (компонент, диапазон концентраций, виды животных, и т.д.). Например, если анализу подвергают молоко разных животных, необходимо выполнить конкретное оценивание для каждого вида, чтобы убедиться, что рассматриваемый прибор подходит для предлагаемой задачи. Если необходимо выполнить анализ имеющего необычный состав молока от некоторых пород животных (например, порода Джерси, с высоким содержанием жира и белка), оценивание рекомендуется осуществлять по всему диапазону содержания соответствующего компонента.

4.2.3 Оценивают конкретную используемую конфигурацию метода и/или прибора. Если конфигурация изменяется, необходимо получить доказательство, что такое изменение не влияет на прецизионность и точность больше, чем допустимые пределы.

4.2.4 Тщательно отмечают и вносят в отчет все характеристики анализируемой молочной продукции и конфигурации оцененного альтернативного метода.

#### 5 Технический протокол валидации

##### 5.1 Последовательность действий

Для любого альтернативного метода процесс стандартного измерения можно представить схематически, как на Рисунке А.1. Каждый шаг соответствует источнику погрешности, который может внести свой вклад в общую неопределенность метода (элемент в разбивке общей точности). Протокол оценки и планирование эксперимента разрабатываются так, чтобы согласовать их с последовательностью обработки сигнала и проверить, чтобы приборы были настроены таким образом, чтобы прецизионность и точность метода соответствовала пределам, требуемым на практике.

Для каждого этапа необходимо оценка, описанная в следующих абзацах, чтобы удовлетворить соответствующие пределы для каждого аналитического критерия, прежде чем переходить к следующей стадии.

Первая часть протокола (5.2.2) является обязательной, поскольку определяет минимальную последовательность процедур оценки.

Вторая часть (5.2.3) рекомендуется для обеспечения дополнительной информации для использования в будущем.

##### 5.2 Сравнительное исследование методов

###### 5.2.1 Общие положения

Данная часть определяет элементы оценивания, которые являются обязательными.

Оценивание должно происходить по результатам испытания, выраженным в стандартизованных единицах стандартного метода. Для методов, охватывающих большие диапазоны значений измеряемой величины (т.е. шире, чем 1 логарифмическая единица), рекомендуется разделить такой диапазон на сегменты, максимальной шириной 1 логарифмическая единица каждый, так чтобы получить не менее трех сегментов и выполнить статистические расчеты отдельно для каждого сегмента.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Например, для определения содержания жира в молоке можно разделить молоко на снятое молоко, полужирное и цельное молоко; для сырого молока диапазоны натурального жира и белка часто относят к видам, которые оценивают отдельно (4.2); соматические клетки в сыром молоке обычно охватывают диапазон в несколько логарифмических единиц.

Для методов, прецизионность и точность которых пропорциональны значению измеряемой величины, к полученным значениям применяется соответствующая поправка.

Результаты оценивания должны соответствовать требованиям, установленным в следующих абзацах. Для общих целей молочной промышленности пределы, указанные для различных аналитических характеристик, взяты (или выведены) из существующих международных стандартов.

В Приложении В указаны такие пределы для содержания жира, белка (общий белок, собственно белок и казеин), лактозы, мочевины и соматических клеток.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Для жидкого молока в процессе доения или переработки, существуют различные критерии оценки для систем анализа инлайн и онлайн.

## 5.2.2 Обязательные оценки для валидации

### 5.2.2.1 Оценка предварительной настройки прибора

Перед выполнением оценки требуют верификации основные критерии, указывающие на надлежащее функционирование прибора или метода. Этими критериями являются ежедневная прецизионность (включая повторяемость (сходимость) и краткосрочная стабильность), остаточное воздействие и линейность.

#### 5.2.2.1.1 Повседневная прецизионность (повторяемость и краткосрочная стабильность)

Используемый метод должен, главным образом, представлять стабильность измерительного сигнала, которая соответствует требованиям к прецизионности. В противном случае, либо анализатор работает неправильно (и его не следует использовать), либо его прецизионность не подходит для целей анализа. Следовательно, кратковременную стабильность (повторяемость) и стабильность уровня сигнала необходимо оценить перед всеми иными характеристиками.

#### ПРИМЕР 1

Прецизионность необходимо оценивать на трех различных уровнях концентрации измеряемого компонента: низком, среднем и высоком. Для этого три разных пробы молока следует разделить на несколько проб для анализа, на столько, сколько необходимо для всех анализов.

В течение дня для каждого уровня анализируют одну и ту же пробу молока в трех параллельных опытах ( $n = 3$ ), используя прибор каждые 15 - 20 мин, без изменений калибровки, чтобы получить серию из не менее 20 проверочных испытаний ( $q \geq 20$ ). Предпочтительно работать в условиях, по возможности, максимально близких к обычным условиям. Следует обработать достаточное количество проб, чтобы не выключать прибор между периодическими проверками.

Используя односторонний дисперсионный анализ (ANOVA) рассчитывают стандартное отклонение повторяемости,  $s_p$ , стандартное отклонение между проверочными сериями,  $s_c$ , и стандартное отклонение дневной воспроизводимости,  $s_R$ , или, что то же самое, производят следующие расчеты:

Для каждой проверки,  $j$  ( $j = 1 \dots q$ ), рассчитывают среднее,

$$\bar{x}_j = \sum x_{ij} / n$$

и стандартное отклонение,

$$s_{ij} = \left[ \sum (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

параллельных опытов.

Для последовательности проверки в целом рассчитывают:

a) стандартное отклонение повторяемости:  $s_r = \left( \sum s_{ij}^2 / q \right)^{1/2}$

b) стандартное отклонение средних:

$$s_{\bar{x}} = \left[ \sum (\bar{x}_j - \bar{x})^2 / (n - 1) \right]^{1/2} = \left\{ \left[ \sum \bar{x}_j^2 - (\sum \bar{x}_j)^2 / q \right] / (q - 1) \right\}^{1/2}$$

при

$$\bar{x} = \sum \bar{x}_j / q$$

c) стандартное отклонение между проверками:  $s_c = (s_{\bar{x}}^2 - s_r^2 / n)^{1/2}$  with  $s_c = 0$  if  $s_c < 0$

d) стандартное отклонение дневной воспроизводимости:  $s_R = (s_c^2 + s_r^2)^{1/2}$

ПРИМЕР 2 Значения, полученные для  $s_r$  и  $s_R$  должны соответствовать пределам, установленным в Приложении В.

ISO 8196-3:2009

Стабильность отклика метода в последовательности проверочных испытаний можно отобразить графически, отложив результаты измерения и средние значения,  $y$ , от номеров последовательности проверок,  $x$ .

Значимость возможного наблюдаемого отклонения или флуктуации можно проверить с помощью  $F$ -теста одностороннего дисперсионного анализа ANOVA или, что то же самое, расчетом наблюдаемого значения  $F$ ,  $F_{obs}$ :

$$F_{obs} = n s_{\bar{x}}^2 / s_r^2$$

Критерий будет значимым, если  $F_{obs} > F_{1-\alpha}$  при  $k_1 = q - 1$ ,  $k_2 = q(n - 1)$ , и  $\alpha = 0,05$ .

### 5.2.2.1.2 Эффект остаточного воздействия (переноса)

5.2.2.1.2.1 Значительные различия в концентрации рассматриваемого компонента между двумя последовательно анализируемыми пробами может повлиять на результат анализа второй пробы.

Расхождения могут быть вызваны плохим промыванием проточной системы и измерительной камеры, в результате циркуляции жидкости и загрязнения от смесителя. автоматическая корректировка результатов приемлема в определенных пределах, при условии, что можно показать наличие систематического переноса небольшого количества материала от одного измерения к следующему.

Автоматические анализаторы жидкостей часто позволяют ввести поправку автоматически, чтобы скомпенсировать общее остаточное воздействие, если необходимо. Перенос необходимо четко различать с эффективностью промыва.

**5.2.2.1.2.2** Следует оценить общий эффект переноса, включая поправочные коэффициенты, либо введенные в прибор, либо полученные методом, предоставленным изготовителем. Этот эффект не должен превышать значений, заявленных для компонентов.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Пределы определяют из предварительного условия, что эффект переноса не должен повлечь погрешность, превышающую повторяемость метода. Следовательно, пределы отношения переноса (COR),  $L_C$ , должны выполнять условие  $L_C \leq (r/\Delta L_{\text{range}}) \times 100$ , где  $r$  предел повторяемости на уровне измеренной систематической погрешности, а  $\Delta L_{\text{range}}$  разность между максимальной и минимальной концентрацией в рассматриваемом диапазоне. Для тех компонентов, для которых повторяемость не является константой в диапазоне измерения, пределы COR устанавливают на базе уровней наилучшей повторяемости (например, подсчет соматических клеток). Обычные пределы для COR находятся в диапазоне от 1 % до 2 %.

**5.2.2.1.2.3** Эффективность промывания поточной системы требуется оценивать отдельно, выполняя испытания без введения поправок (поправочный коэффициент устанавливают на 0) в ручном режиме, в обход автоматического смесителя. Эффективность промывания должна быть не меньше 99 % или внутренний перенос не должен превышать 1 %.

**5.2.2.1.2.4** Анализируют две пробы, с высокой и низкой концентрацией (измеряемого компонента), соответственно, априорного распределения в ряд проб для анализа. Повторяют, столько раз,  $N_C$ , сколько требуется (см. ниже) последовательность анализа в пересчете на концентрацию компонента: низкая, высокая, высокая, высокая, чтобы получить  $N_C$  наборов результатов,  $L_{L1}$ ,  $L_{L2}$ ,  $L_{H1}$ ,  $L_{H2}$ . Минимальное число последовательных повторностей,  $N_C$ , рекомендуется брать 20.

Такое число рекомендовано, чтобы уменьшить относительную неопределенность оценки COR,  $\delta_{\text{rel}}$ , и обеспечить четкое отличие от нуля. Искомая относительная неопределенность равна 20 % или меньше. Можно получить нужное число последовательностей по  $N_C \geq (100/\delta_{\text{rel}})^2$ . Увеличение числа последовательностей особенно будет учитываться в случае оценки COR для подгонки поправочного коэффициента.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Для тех компонентов, для которых повторяемость не является постоянной в диапазоне измерений и для уровней с высокой повторяемостью, требуются более многочисленные последовательности. Альтернативные количества последовательностей можно рассчитать по  $N_C \geq [r \times 100 / (L_C \Delta L_{\text{test}})]^2$  где  $\Delta L_{\text{test}}$  диапазон между пробами с высоким и низким уровнем концентрации (равным или выше  $\Delta L_{\text{range}}$ ).

**5.2.2.1.2.5** Требования метода к пробам: Готовят достаточное количество проб для анализа из каждой лабораторной пробы с низким и высоким уровнем концентрации (измеряемого компонента) до анализа, так чтобы проанализировать каждую пробу только один раз. Лабораторные пробы с низким и высоким уровнем концентрации (измеряемого компонента) должны предпочтительно представлять собой молоко или жидкие продукты с вязкостью, аналогичной вязкости обычно испытываемых продуктов.

Отдельные концентрации компонентов должны значительно отличаться друг от друга. Для молока, например, это достигается естественной сепарацией (сливкообразование для определения жира), искусственной сепарацией (ультрафильтрация для белка, микрофильтрация для соматических клеток), или добавлением (лактоза и мочевины).

Для определения биохимических компонентов низкая и высокая концентрация измеряемых компонентов в лабораторных пробах должна, предпочтительно, иметь экстремальное значение в измеряемом диапазоне (верхняя и нижняя граница диапазона).

**ПРИМЕЧАНИЕ** Рекомендуется использовать достаточно большие диапазоны, чтобы легко отличать эффекты переноса от случайной погрешности. Минимальный требуемый диапазон,  $\Delta L_{\text{test}} = L_H - L_L$ , можно рассчитать согласно выражению  $\Delta L_{\text{test}} \geq r \times 100 / (L_C \sqrt{N_C})$ , где  $r$  и  $L_C$  установленные пределы, а  $N_C$  число примененных последовательностей (см. Приложение В).

Для компонентов молока или критериев, охватывающих большие диапазоны концентрации, например, порядка  $3 \log_{10}$  или больше, отношение погрешности на перенос может не быть постоянной по всему диапазону. Это следует проверить путем оценки переноса при разных концентрациях.

В таком случае рекомендуется выбрать уровень  $L_{Hi}$  на медиане каждой части,  $i$ , предварительно определенной в полном диапазоне. Минимальное требуемое число – два уровня в диапазоне средней

и высокой концентрации, что можно расширить до трех для особенно широких диапазонов.

**ПРИМЕР** Для подсчета соматических клеток в молоке от одного животного рекомендуется определить три уровня: порядка  $500 \times 10^3$  клеток/мл,  $1\,000 \times 10^3$  клеток/мл, и  $1\,500 \times 10^3$  клеток/мл.

**5.2.2.1.2.6** Расчет: Рассчитывают среднее и стандартные отклонения разностей,  $d_{L_i} = L_{L_1i} - L_{L_2i}$  и  $d_{L_{Hi}} = L_{H_2i} - L_{H_1i}$ , соответственно,  $\bar{d}_{L_L}$ ,  $s_{L_L}$ ,  $\bar{d}_{L_H}$ ,  $s_{L_H}$  и среднее разностей концентраций,  $\bar{d}_\rho = L_{H_2} - L_{L_2}$ .

Затем рассчитывают COR,  $C$ , и их стандартные отклонения,  $s_C$ , используя следующие формулы:

$$C_{H/L} = \bar{d}_{L_L} \times 100 / \bar{d}_\rho \text{ и } s_{C_{H/L}} = s_{d_{L_L}} \times 100 / \bar{d}_\rho \sqrt{N_C}$$

$$C_{L/H} = \bar{d}_{L_H} \times 100 / \bar{d}_\rho \text{ и } s_{C_{L/H}} = s_{d_{L_H}} \times 100 / \bar{d}_\rho \sqrt{N_C}$$

COR также можно получить используя следующие эквивалентные формулы:

$$C_{H/L} = (\sum L_{L_1} - \sum L_{L_2}) \times 100 / (\sum L_{H_2} - \sum L_{L_2}) = (\bar{L}_{L_1} - \bar{L}_{L_2}) \times 100 / (\bar{L}_{H_2} - \bar{L}_{L_2})$$

$$C_{L/H} = (\sum L_{H_2} - \sum L_{H_1}) \times 100 / (\sum L_{H_2} - \sum L_{L_2}) = (\bar{L}_{H_2} - \bar{L}_{H_1}) \times 100 / (\bar{L}_{H_2} - \bar{L}_{L_2})$$

Эти два полученных значения COR не должны заметно отличаться друг от друга и не должны превышать предел,  $L_C$ , в установленных условиях испытания для компонента в Приложении В.

Подтверждают это с помощью проверки, выполняются ли следующие условия:

$$C_{H/L} - C_{L/H} \geq t_{1-\alpha/2} \left[ s_{C_{H/L}}^2 + s_{C_{L/H}}^2 \right]^{1/2}$$

$$C_{H/L} \leq L_C - t_{1-\alpha} s_{C_{H/L}}$$

$$C_{L/H} \leq L_C - t_{1-\alpha} s_{C_{L/H}}$$

при  $\alpha = 0,05$ .

### 5.2.2.1.3 Линейность

**5.2.2.1.3.1 Общие положения.** Согласно классическому определению непрямого метода сигнал от прибора должен создаваться характеристикой измеряемого компонента и, таким образом, дать возможность получения определения простой взаимосвязи с концентрацией компонента.

Линейность выражает постоянство соотношения между ростом концентрации компонента молока и соответствующим увеличением результата альтернативного метода. Следовательно, линейность измерительного сигнала является в большинстве случаев существенной для поддержания постоянной чувствительности в диапазоне измерения и облегчает выполнение калибровки и подстройки. Кроме того, она позволяет (до некоторой степени) производить измерения вне диапазона калибровки посредством линейной экстраполяции.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Существующие в настоящее время альтернативные методы часто базируются на множественных сигналах, используя многовариантный подход. Для этих методов, в частности, для примеров, включающих незначительные относительные изменения в матрице пробы и сигналы с низкой специфичностью, оценка линейности может быть затруднена в результате большой случайной погрешности (низкое значение отношения сигнал/шум). В таких случаях, поскольку систематическая погрешность линейности включена в составляющую общей точности, оценку линейности можно опустить, при условии, что она будет произведена на следующем этапе оценивания точности.

Метод устанавливается в 5.2.2.1.3.2 - 5.2.2.1.3.4.

**5.2.2.1.3.2 Пробы.** Линейность можно оценить, используя наборы 8 - 15 проб с концентрациями компонента, равномерно распределенными по диапазону измерения.

- a) Пробы, предпочтительно, должны представлять собой молоко или жидкости с аналогичными физическими характеристиками (т.е. плотностью, вязкостью), например, путем комбинирования (взвешивания) пробы с высоким содержанием,  $L_H$ , и низким содержанием,  $L_L$ .
- b) Концентрации должны изменяться через регулярные интервалы. В зависимости от компонента, этого можно, например, достичь естественной сепарацией (сливкообразование для молочного жира), искусственной сепарацией (ультрафильтрацией для белка, микрофильтрацией для соматических клеток) и рекомбинацией, или путем использования чистых растворов (лактоза и мочевины).
- c) Диапазон оценки линейности должен быть конгруэнтным диапазону концентраций для валидации (Приложение В).
- d) Стандартные значения проб для оценки линейности можно установить либо по коэффициенту смещения, либо по теоретическим концентрациям, рассчитанным по концентрациям исходных проб. В зависимости от альтернативного метода их можно получить из объемных соотношений компонентов в смеси, если анализ выполняется на объеме молока (волюметрическое измерение забора проб), и массовых соотношений компонентов в смеси, если анализ осуществляется на взвешенной пробе молока (см. Приложение Е).

**5.2.2.1.3.3 Анализы.** Анализируют каждую пробу, сначала в порядке возрастания концентрации на  $N_L/2$  параллельных опытах, затем в порядке понижения концентрации на  $N_L/2$  параллельных опытах, так чтобы получить общее число параллельных результатов, релевантное для измеряемой величины (см. Приложение В).

**5.2.2.1.3.4 Расчет и оценка.** Решают уравнение линейной регрессии  $y = bx + a$  ( $y$  = прибор,  $x$  = стандартный метод) и остатки  $e_i$  ( $e_i = y_i - bx_i - a$ ) от средних значений параллельных опытов и теоретических значений.

Откладывают остатки,  $e_i$ , по оси ординат против теоретических концентраций, отложенных по оси абсцисс. Визуальный контроль результатов обработки данных обычно дает достаточную информацию о линейности сигнала.

Любое отклонение от линейности или очевидный тренд данных на графике указывает на потенциальную проблему и ведет к дополнительным исследованиям метода, как подробно описано ниже.

Если какой-либо остаток очевидно выпадает из имеющегося распределения (выброс), соответствующий результат следует удалить и повторить расчет, прежде чем использовать остальные результаты.

Рассчитывают относительную систематическую погрешность линейности по соотношению диапазона остатков к диапазону значений сигналов:

$$\frac{\Delta e}{\Delta \rho} = \frac{e_{\max} - e_{\min}}{\rho_{\max} - \rho_{\min}}$$

где

$e_{\max}$  численное значение верхнего остатка;

$e_{\min}$  численное значение нижнего остатка;

$\rho_{\max}$  численное верхнее значение результата, полученного на приборе;