

---

---

**Корма для животных, зерновые и  
молотые зерновые продукты.  
Руководство по применению  
спектрометрии в ближней  
инфракрасной области спектра**

**iTeh STA** *Animal feeding stuffs, cereals and milled cereal products — Guidelines  
for the application of near infrared spectrometry*  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 12099:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9e8db073-11cb-46d8-ae49-01ace8c95c65/iso-12099-2010>

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



Ссылочный номер  
ISO 12099:2010(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 фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были 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, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 12099:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9e8db073-11cb-46d8-ae49-01ace8c95c65/iso-12099-2010>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO 2010

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, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

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)

Опубликовано в Швейцарии

**Содержание**

Страница

Предисловие .....	iv
Введение .....	v
1 Область применения .....	1
2 Термины и определения .....	1
3 Принцип .....	2
4 Аппаратура .....	2
5 Калибровка и первоначальная валидация .....	2
6 Статистики для измерения рабочих характеристик .....	5
7 Отбор проб .....	12
8 Проведение анализа .....	12
9 Проверка стабильности прибора .....	13
10 Проведение проверки качества калибровки .....	13
11 Прецизионность и точность .....	15
12 Протокол испытания .....	15
Приложение А (информативное) Руководство по конкретным стандартам NIR .....	17
Приложение В (информативное) Примеры рисунков .....	18
Приложение С (информативное) Дополнительные термины и определения .....	24
Библиография .....	33

## 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 работах. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, установленными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы данной части ISO 16065 могут быть объектом патентных прав. Организация ISO не должна нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 12099 был подготовлен Европейским комитетом по стандартизации (CEN), Техническим комитетом TC 327, *Корма для животных. Методы отбора проб и анализа*, совместно с Техническим комитетом ISO TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 10, *Корма для животных*, в соответствии с Соглашением по техническому сотрудничеству между ISO и CEN (Венское Соглашение).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9e8db073-11cb-46d8-ae49-01ace8c95c65/iso-12099-2010>

## Введение

Настоящий международный стандарт разработан на основе международного стандарта ISO 21543|IDF 201<sup>[15]</sup>, подготовленного Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной Молочной Федерацией (IDF).

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 12099:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9e8db073-11cb-46d8-ae49-01ace8c95c65/iso-12099-2010>



# Корма для животных, зерновые и молотые зерновые продукты. Руководство по применению спектроскопии в ближней инфракрасной области спектра

## 1 Область применения

В настоящем международном стандарте дано руководство по определению методом спектроскопии в ближней инфракрасной области спектра таких составляющих, как влага, жиры, белки, крахмал и сырая клетчатка, а также таких параметров, как перевариваемость в отношении кормов для животных, зерновых и молотых зерновых продуктов.

Определения основаны на спектрометрическом измерении в ближней инфракрасной области спектра.

## 2 Термины и определения

Применительно к данному международному стандарту используются следующие термины и определения.

### 2.1

**прибор, работающий в ближней инфракрасной области спектра**  
**near infrared instrument**

**ИК-анализатор**  
**NIR-анализатор**

**NIR instrument**

прибор, с помощью которого при использовании в установленных условиях, можно прогнозировать **содержание компонентов** (2.3) и **технологические параметры** (2.4) в матрице через взаимосвязь с поглощением в ближней инфракрасной области спектра

**ПРИМЕЧАНИЕ** В контексте данного международного стандарта матрицами являются корма для животных, зерновые и молотые зерновые продукты.

### 2.2

**корма для животных**  
**animal feeding stuff**

любое вещество или продукт, включая добавки, обработанные, частично обработанные или необработанные, предназначенные для кормления скота

**ПРИМЕРЫ** Сырые материалы, фураж, кормовая мука, комбикорм и другие конечные продукты, а также корма для домашних питомцев.

### 2.3

**содержание компонентов**  
**constituent content**

массовая доля веществ, определенная подходящим стандартизованным или подтвержденным химическим методом

**ПРИМЕЧАНИЕ 1** Массовую долю часто выражают в процентах.

**ПРИМЕЧАНИЕ 2** Примерами определяемых компонентов являются влага, жиры, белки, сырая клетчатка, нейтральное детергентное волокно и кислое детергентное волокно. В отношении подходящих методов см., например, Ссылки [1] – [16].

**2.4**  
**технологический параметр**  
**technological parameter**  
свойство или функциональная характеристика матрицы, которые можно определить подходящим стандартизованным или подтвержденным методом(ами)

ПРИМЕР Перевариваемость.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 В контексте данного международного стандарта матрицы представляют собой корма для животных, зерновые и молотые зерновые продукты.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Можно разработать и выполнить валидацию NIR-методов в отношении других параметров и матриц, при условии соблюдения процедуры настоящего международного стандарта. Единицы измерения определяемых параметров должны соответствовать единицам, используемым в стандартных (контрольных) методах.

### 3 Принцип

Спектральные данные в ближней инфракрасной области собирают и трансформируют в концентрации компонента или параметра по калибровочным моделям, разработанным по репрезентативным пробам рассматриваемых продуктов.

### 4 Аппаратура

**4.1 ИК-анализаторы** (в ближней ИК-области спектра), на основе измерения диффузионного отражения или пропускания в диапазоне длин волн от 770 нм до 2 500 нм (от  $12\,900\text{ см}^{-1}$  до  $4\,000\text{ см}^{-1}$ ), или сегментах этого диапазона или при выбранных длинах волн или волновых числах. Оптический принцип может быть дисперсионным (например, дифракционные монохроматоры), интерферометрическим или нетепловым (например, светоиспускающие диоды, лазерные диоды и лазеры). Прибор должен быть оснащен диагностической системой для тестирования фотометрического шума и воспроизводимости, точности длины волны или волнового числа и прецизионности длины волны или волнового числа (для сканирующего спектрофотометра).

Анализатор должен измерять пробу достаточно большого объема или площади поверхности, чтобы устранить всякое заметное влияние неоднородности за счет химического состава или физических свойств анализируемой пробы. Длину оптического пути в пробе (толщина слоя пробы) при измерениях пропускания следует оптимизировать согласно рекомендациям изготовителя по отношению к интенсивности сигнала, чтобы получить линейность и максимальное соотношение сигнал/шум. При измерении отражения, для устранения эффектов высушивания поверхность взаимодействующего слоя пробы необходимо отделить кварцевым окошком или другим подходящим материалом.

**4.2 Подходящее устройство для размалывания или измельчения**, для подготовки пробы (при необходимости).

ПРИМЕЧАНИЕ Изменения условий размалывания или измельчения могут повлиять на NIR-измерения.

### 5 Калибровка и первоначальная валидация

#### 5.1 Общие положения

Перед применением прибор подлежит калибровке. Ввиду разнообразия калибровочных систем, которые можно применять к ИК-анализаторам, невозможно привести конкретную методику калибровки.



Для пояснения методов калибровки см., например, Ссылку [17] и соответствующие инструкции изготовителя. Для валидации, важно иметь достаточное количество репрезентативных проб, охватывающих такие варианты, как:

- a) различные комбинации и диапазоны состава компонентов соответствующего максимального и минимального содержания;
- b) сезонные, географические и генетические эффекты на фураж, кормовое сырье и зерновые;
- c) различная техника и условия обработки;
- d) различные условия хранения;
- e) различная температура пробы и прибора;
- f) различные варианты приборов (различия между приборами).

ПРИМЕЧАНИЕ Для надежной валидации требуется не менее 20 проб.

## 5.2 Стандартные (контрольные) методы

Следует пользоваться принятыми на международном уровне стандартными методами определения содержания влаги, жиров, белков и других компонентов и параметров. См. Ссылки [1] – [16] в отношении примеров.

Стандартный метод, используемый для калибровки, должен находиться с статистически управляемом режиме, т.е. для любой пробы изменчивость должна включать случайные изменения воспроизводимой системы. Важно знать прецизионность стандартного метода.

## 5.3 Выбросы

В большинстве случаев в процессе калибровки и валидации наблюдаются статистические выбросы. Выбросы могут относиться к NIR-данным (данным, полученным в ближней ИК-области спектра) (спектральные выбросы, здесь и далее называемые «*x*-выбросы») или погрешностям в опорных данных (данных, полученных в стандартных методах), или пробам (результатам) с различными взаимосвязями между опорными данными и NIR-данными (здесь и далее называемые «*y*-выбросы») (см. Рисунки В.1 – В.5).

Для целей валидации пробы (результаты) не считаются выбросами в том случае, если:

- a) они находятся в рабочем диапазоне компонентов /параметров в калибровке;
- b) они находятся в пределах спектральной изменчивости калибровочных образцов, например, как оцененные по расстоянию Махаланобиса;
- c) спектральный остаток будет ниже предельного значения, определенного в процессе калибровки;
- d) прогнозируемый остаток будет ниже предельного значения, определенного в процессе калибровки.

Если проба (результат) оказалась выбросом, то ее необходимо сначала проверить, чтобы посмотреть, является ли она *x*-выбросом. Если она превышает пределы для *x*-выбросов, определенные для калибровки, ее следует исключить. Если это не *x*-выброс, тогда следует проверить и опорное значение, и NIR-прогнозируемое значение. Если проверка подтверждает первоначальные значения, то пробу (результат) не следует исключать: ее следует включить в статистику валидации. Если полученные при проверке значения показывают, что либо первоначальные опорные значения, либо NIR-прогнозируемые значения были с погрешностью, то следует использовать новые значения.

## 5.4 Модели валидации и калибровки

### 5.4.1 Общие положения

Перед применением калибровочные уравнения подлежат валидации локально на независимой анализируемой выборке, которая является репрезентативной для множества подлежащих анализу проб. Для определения систематической погрешности (смещения) требуется не менее 10 проб; для определения стандартной ошибки прогноза (SEP, см.6.5) требуется не менее 20 проб. Валидация должна выполняться для каждого типа проб, компонента или параметра и температуры. Калибровка действительна только для данных вариантов, т.е. типов проб, диапазона и температуры, использованных в валидации.

Результаты, полученные на независимой анализируемой выборке, наносят на график, опорные значения против NIR-значений, и разности против опорных результатов, чтобы получить визуальное впечатление о результативности калибровки. Рассчитывают SEP (см. 6.5) и исследуют график остатков по данным, скорректированным на среднюю систематическую ошибку (смещение) в отношении выбросов, т.е. проб (результатов), остаток для которых превышает  $\pm 3s_{SEP}$ .

Если процесс валидации показывает, что модель не может дать приемлемой статистики, тогда такую модель использовать не следует.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Приемлемость модели зависит от таких критериев, как исполнение стандартного метода, охваченного диапазона и цели анализа, а решение принимают участвующие стороны.

Следующий этап заключается в подгонке NIR-данных,  $y_{NIR}$ , и опорных данных,  $y_{ref}$ , методом линейной регрессии ( $y_{ref} = by_{NIR} + a$ ), чтобы получить статистику, которая описывает результаты валидации.

### 5.4.2 Поправка на систематическую погрешность (смещение)

Данные также исследуют в отношении смещения между методами. Разность между средними NIR-прогнозируемыми и опорными значениями, значительно отличающаяся от нуля, показывает на систематическую погрешность калибровки. Систематическую погрешность можно устранить путем корректировки константы (см. 6.3) в калибровочном уравнении.

### 5.4.3 Регулировка наклона

Если наклон,  $b$ , значительно отличается от 1, калибровка смещена.

Подгонки наклона или отсекаемого отрезка при калибровке обычно не рекомендуется, если калибровка применяется не к новым типам проб или приборов. Если повторное исследование калибровки не выявило выбросов, особенно выбросов с высокой балансировкой, предпочтительно расширить калибровочную выборку, чтобы включить больше проб. Однако, если наклон отрегулирован, тогда следует испытать калибровку на новой независимой анализируемой выборке.

### 5.4.4 Расширение калибровочной выборки

Если точность калибровки не оправдывает ожидания, калибровочную выборку следует расширить с включением большего числа проб или выполнить новую калибровку. В любом случае, если выполняют новую калибровку на расширенной выборке, процесс валидации следует повторить на новой выборке для валидации. Если необходимо, расширение калибровочной выборки следует продолжить, пока не будут получены приемлемые результаты на выборке для валидации.

## 5.5 Изменение условий измерения и работы прибора

Если дополнительная калибровка не проведена, локальную валидацию NIR-метода, устанавливающую точность этого метода, обычно не считается достоверной в случае изменения условий испытания.

Например, калибровки, проведенные для определенного множества проб, могут оказаться недействительными за пределами этого множества, хотя диапазон концентраций аналита не изменяется. Калибровка, проведенная на травянистом силосе из одного района, может не дать такую же точность на силосе из другого района, если параметры генетики, выращивания и переработки не совпадают.

Изменения в технике представления пробы или условиях измерений (например, температуры), не учтенные в калибровочной выборке, также могут повлиять на результат.

Калибровки, выполненные на определенном приборе, не всегда можно переносить непосредственно на идентичный анализатор, работающий по тому же принципу. Может потребоваться выполнение регулировки систематической погрешности, наклона или отсекаемого отрезка, по калибровочным характеристикам. В большинстве случаев необходимо стандартизовать оба прибора друг относительно друга до переноса калибровочных характеристик (Ссылка [17]). Можно использовать разные методы стандартизации для переноса калибровки между приборами разного типа, при условии, что пробы измеряются одинаковым образом (отражение, пропускание) и что область спектра обычная.

Если изменились условия, рекомендуется выполнить дополнительную валидацию.

Калибровку рекомендуется проверять всякий раз, когда меняют или ремонтируют основную часть анализатора (оптическую систему, детектор).

## 6 Статистики для измерения рабочих характеристик

### 6.1 Общие положения

Рабочие характеристики модели прогнозирования должны быть определены по выборке проб для валидации. Эта выборка состоит из проб, которые независимы от калибровочной выборки. На предприятии, это новые партии, в сельском хозяйстве – это новый урожай или новое место проведения эксперимента.

Такую выборку проб необходимо внимательно проанализировать стандартными методами. Необходимо особое внимание уделить анализу проб для валидации, а прецизионность результатов более важна для выборки для валидации, чем для проб, используемых на этапе калибровки.

Число проб для валидации должно быть не менее 20, чтобы вычислить статистику с определенным доверием.

### 6.2 Построение графика по результатам

Важно визуализировать результаты в графиках, например, в графике зависимости опорных значений от прогнозируемых или остатков от прогнозируемых значений.

Остатки определяются как:

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \quad (1)$$

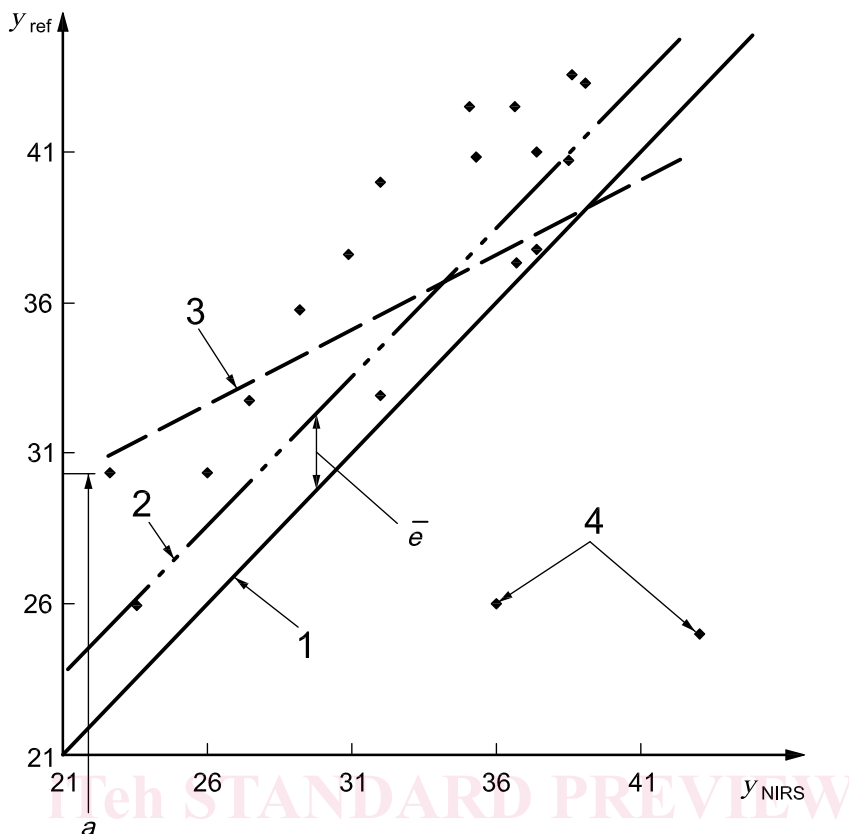
где

$y_i$   $i$ -тое опорное значение;

$\hat{y}_i$   $i$ -тое прогнозируемое значение, полученное при использовании многофакторной NIR-модели.

Способ вычисления разностей дает положительную систематическую погрешность, если прогнозируемые значения слишком высоки, и отрицательную, если прогнозируемые значения слишком низки по сравнению с опорными значениями.

График данных дает промежуточное впечатление о корреляции, систематической погрешности, наклоне и показывает наличие очевидных выбросов (см. Рисунок 1).



**Обозначение**

- 1 линия 45° (идеальная линия с систематической погрешностью,  $\bar{e} = 0$ , наклоном,  $b = 1$ )  $a$  отрезок
- 2 линия 45°, смещенная систематической погрешностью,  $\bar{e}$  систематическая погрешность
- 3 линия линейной регрессии с отсекаемым отрезком  $y_{ref}, a$   $y_{NIRS}$  прогнозируемое значение в ближней ИК-области спектра
- 4 выбросы  $y_{ref}$  опорное значение

ПРИМЕЧАНИЕ Выбросы имеют сильное влияние на расчет наклона и подлежат исключению, если результаты предполагается использовать для выверки.

**Рисунок 1 — График рассеяния для выборки для валидации,  $y_{ref} = f(a + by_{NIRS})$**

**6.3 Систематическая погрешность**

Большей частью систематическая погрешность или систематическая ошибка – это то, что наблюдается с NIR-моделями. Систематическая погрешность может возникать за счет того, что: новые пробы определенного типа не были предварительно просмотрена моделью, за счет дрейфа прибора, отклонений в мокрых химических методах, изменений в процессах, и изменений при подготовке проб.

При количестве независимых проб,  $n$ , систематическая погрешность (или смещение) является средней разностью,  $\bar{e}$ , и ее можно определить как:

$$\bar{e} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n e_i \tag{2}$$

где  $e_i$  остаток, определенный в Формуле (1), или

$$\bar{e} = \frac{1}{n} \left( \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n \hat{y}_i \right) = \bar{y} - \bar{\hat{y}} \tag{3}$$

где

$y_i$   $i$ -тое опорное значение;

$\hat{y}_i$   $i$ -тое прогнозируемое значение, полученное при использовании многофакторной NIR-модели;

и

$\bar{\hat{y}}$  среднее из прогнозируемых значений;

$\bar{y}$  среднее из опорных значений.

Значимость систематической погрешности проверяют с помощью  $t$ -критерия. Расчет доверительных пределов систематической погрешности (BCL),  $T_b$ , определяет предельные значения для выполнения формулы приемки или браковки на небольшой выборке проб из нового множества.

$$T_b = \pm \frac{t_{(1-\alpha/2)} s_{SEP}}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

где

$\alpha$  вероятность появления ошибки типа I;

$t$  соответствующее  $t$ -значение Стьюдента для двустороннего критерия со степенями свободы, связанными с SEP, и выделенная вероятность ошибки типа I (см. Таблицу 1);

$n$  число независимых проб;

$s_{SEP}$  стандартная ошибка прогноза (см. 6.5).

ПРИМЕР При  $n = 20$ , и  $s_{SEP} = 1$ , пределы будут равны

$$T_b = \pm \frac{2,09 \times 1}{\sqrt{20}} = \pm 0,48 \quad (5)$$

Это означает, что систематическая погрешность, тестируемая на 20 пробах, должна быть выше 48 % от стандартной ошибки прогноза, которая должна считаться отличной от нуля.

**Таблица 1 — Значения  $t$ -распределения с вероятностью,  $\alpha = 0,05 = 5 \%$**

$n$	$t$	$n$	$t$	$n$	$t$	$n$	$t$
5	2,57	11	2,20	17	2,11	50	2,01
6	2,45	12	2,18	18	2,10	75	1,99
7	2,36	13	2,16	19	2,09	100	1,98
8	2,31	14	2,14	20	2,09	200	1,97
9	2,26	15	2,13	30	2,04	500	1,96
10	2,23	16	2,12	40	2,02	1 000	1,96

ПРИМЕЧАНИЕ Можно использовать функцию Excel<sup>1)</sup> TINV.

1) Excel – торговое наименование продукта, поставляемого компанией Microsoft. Эта информация дается для удобства пользователей данного документа и не указывает на предпочтение со стороны ISO в отношении этого продукта. Можно использовать равноценные продукты, при условии получения аналогичных результатов.