**Процедура 1 Раздела 12 Руководства ICAR – Протокол оценки анализаторов молока для сертификации ICAR**

Оценка анализаторов молока

Дата подготовки версии: апрель 2020 г.

Ссылка на файл: Procedure 1 Protocol for evaluation of milk analysers 20.01.docx

СОДЕРЖАНИЕ

1 Предисловие 4

2 Введение 4

3 Правила сертификации 4

3.1 Этапы оценки и общие принципы 4

3.2 Область действия сертификата 5

4 Ход операций технической оценки: 5

4.1 Введение в принцип оценки (пояснительная записка) 5

4.2 Минимум необходимых анализов для выполнения оценки 6

4.2.1 Оценка предварительных инструментальных настроек 6

4.2.2 Оценка общей точности 12

4.3 Дополнительные информативные исследования 16

4.3.1 Устойчивость к изменению условий 16

4.3.2 Практические выгоды (этап II) 18

5 Предоставление отчетов и сертификатов 19

6 Приложение 1: Типовые статистические формулы для оценки методов 20

6.1 Применение в оценке прецизионности 20

6.2 Применение в оценке точности 20

7 Приложение 2: Примеры расчета и представления 23

7.1 Оценка предварительных инструментальных настроек 23

7.1.1 Суточная прецизионность: пример жирности, проанализированной методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141) 23

7.1.2 Оценка предварительных инструментальных настроек 24

7.2 Оценка линейности: на примере жирности, проанализированной методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141) 25

7.3 Примеры: оценка предварительных инструментальных настроек 28

7.3.1 Оценка линейности 28

7.3.2 Оценка пределов измерения: пример счетчика соматических клеток (см. IDF 148) 28

7.4 Оценка линейности: Пример счетчика соматических клеток (см. IDF 148) 29

7.5 Оценка общей точности: Пример для жирности 32

Сводка изменений

| **Дата изменения** | **Характер изменения** |
| --- | --- |
| Декабрь 2018 г. | Конвертация файла из PDF в MS Word. Преобразовано в Процедуру 1 в Разделе 12. Отформатировано в соответствии с шаблоном Руководства ICAR. |
| Январь 2019 г. | Внесены правки в текст, добавлены номера рисунков, добавлены номера таблиц, а также добавлены перекрестных ссылок.  Отредактированы формулы в Приложениях для исправления надстрочных индексов дисперсий. |
| Апрель 2020 г. | Слово «Одобрение» заменено на «Сертификация». |

1 Предисловие

Настоящий протокол подготовлен Рабочей группой лабораторий по анализу молока.

Хотя в различных стандартах или нормативных документах тема оценки инструментальных, косвенных и альтернативных методов уже рассматривалась, до сих пор отсутствуют документы, в которых предлагаются практические инструкции по способам выполнения и специфическим техническим требованиям в рамках оценки стандартных аналитических методов для конкретного аспекта сертификации учета надоев, осуществляемой (официальным) международным органом, таким как ICAR.

Таким образом, целью настоящего документа является определение общей процедуры, начиная с запроса на сертификацию, процедуры сертификации, описания необходимой технической оценки и предоставления на завершающей стадии элементов для принятия решения о сертификации.

Настоящий документ соответствует стандарту ISO 8196 (эквивалент стандарта IDF 128) и касается молока различных видов животных, подпадающих под сферу компетенции ICAR (коровы, козы, овцы, буйволы), и различных компонентов, представляющих интерес для учета надоев (жир, белок, лактоза, число соматических клеток, мочевина).

2 Введение

До начала использования нового аналитического метода или нового оборудования для учета надоев, они должны пройти оценку и должны быть одобрены для использования компетентным органом. В настоящее время оценки проводятся на индивидуальной основе, что, как следствие, может привести к созданию большого количества различных систем оценки во многих странах. Более того, отсутствие общего протокола для таких оценок может привести к появлению неполной и неточной технической информации и многочисленных отчетов с несопоставимыми или частично сопоставимыми результатами.

Целью этого протокола является определение всех соответствующих аналитических параметров, подлежащих оценке, с указанием применимых пределов, которые должны соблюдаться в соответствующих диапазонах для различных видов животных.

На основании этого протокола ограниченного количества оценок должно быть достаточно для принятия решения о международной сертификации по общим правилам ICAR для применения аналитических методов и/или оборудования при учете надоев.

3 Правила сертификации

3.1 Этапы оценки и общие принципы

a. **Этап I:** Каждый новый прибор будет оцениваться в конкретных условиях на испытательной установке в течение периода времени, необходимого для оценки всех технических требований, предусмотренных в настоящем протоколе. Эта часть оценки должна выполняться экспертной лабораторией, специализирующейся на аналитических оценках, а также имеющей опыт работы с требуемыми эталонными методами. Такая лаборатория должна быть аккредитована для этой деятельности или признана компетентной для этой задачи уполномоченным органом (национальной организацией учета надоев и/или ICAR).

b. **Этап II:** Второй этап оценки начинается после успешного завершения первого. Как минимум два новых прибора должны использоваться в течение двухмесячного периода наблюдения в обычных условиях эксплуатации в двух разных лабораториях учета надоев. Эти приборы применяют для ежедневного контроля качества, и они должны соответствовать общим требованиям к удобству.

c. **Национальная сертификация:** Производители (или поставщики) должны направлять запросы на оценку в официальную организацию (которая осуществляет учет надоев на национальном уровне — министерство и т. д.), которая должна назначить лаборатории для выполнения оценки и выдать им рабочее задание.

Отчеты по результатам обоих этапов I и II будут рассмотрены официальным комитетом. Затем на основе технических отчетов, подготовленных лабораториями, может выноситься решение о национальной сертификации.

d. **Международная сертификация**: Для получения международной сертификации ICAR необходимо успешно обновить общую оценку в **трех** странах ICAR на аналогичных основаниях, как определено в протоколе. Сопоставление отчетов и запросы на сертификацию ICAR должны осуществляться производителями; соответствующая документация должна быть направлена в ICAR. Файлы анализатора молока будут переданы в соответствующий подкомитет ICAR (по анализу молока) для получения технических рекомендаций Совета.

Затем Совет ICAR примет решение по поводу запроса на сертификацию.

3.2 Область действия сертификата

Сертификат выдается только:

a. Для области применения, в рамках которой проводилась оценка приборов (компонент, диапазон концентраций, вид животных и т. д.)

- В случае, если анализируется молоко различных видов животных, должны быть проведены конкретные оценки для каждого рассматриваемого вида, чтобы убедиться в пригодности прибора для предполагаемой области использования. См. в Таблице 1 диапазоны компонентов для конкретных видов.

- В случае породы с нестандартным содержанием молочного жира и белка (например, джерсейская порода с высоким содержанием жира и белка в молоке) оценку следует проводить в том же диапазоне компонентов на молоке конкретной породы.

b. Для конкретной конфигурации прибора, используемой во время оценки.

- В случае изменения конфигурации должны быть представлены доказательства того, что данное изменение не приводит к выходу за установленные пределы прецизионности и точности.

Виды животных и особенности оцениваемых конфигураций должны детально описываться в отчете об оценке.

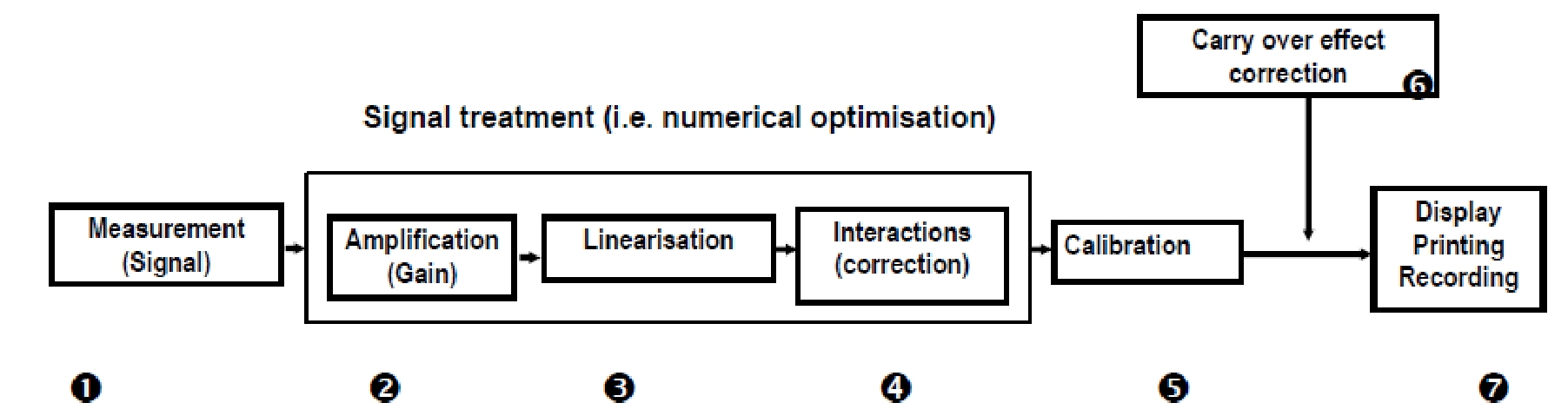
Таблица 1. Минимальный ориентировочный диапазон компонентов молока, который должен охватываться оценкой.

|  | **Коровы** | **Козы** | **Овцы** | **Буйволы** | **Позиции (Units)** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Жиры | 2,0 - 6,0 | 2,0 - 5,5 | 5,0 - 10,0 | 5,0 - 14,0 | г/100 г |
| Белки | 2,5 - 4,5 | 2,5 - 5,0 | 4,0 - 7,0 | 4,0 - 7,0 | г/100 г |
| Лактоза | 4,0 - 5,5 | 4,0 - 5,5 | 4,0 - 5,5 | 4,0 - 5,5 | г/100 г |
| Мочевина | 10,0 - 70,0 | 10,0 - 70,0 | 10,0 - 70,0 | 10,0 - 70,0 | мг/100 г |
| Клетки | 0 - 2000 | 0 - 2000 | 0 - 2000 | 0 - 2000 | x103 клеток/мл |

4 Ход операций технической оценки:

4.1 Введение в принцип оценки (пояснительная записка)

При любом используемом косвенном методе, стандартная обработка измерений может быть представлена схемой на рисунке 1. Не все этапы являются обязательными для каждого инструмента. Это зависит от выбора производителей в отношении принципа измерения и измеряемого компонента — например, незначительное или пренебрежимо малое влияние (к примеру, этап 3 при подсчете соматических клеток в коровьем молоке), или, в некоторых случаях, объединение этапов (к примеру, этапы 2, 3 и 4; в частности, инфракрасные устройства). Тем не менее, теоретически на приборе могут быть настроены различные этапы обработки сигналов, для которых будет доступна возможная активация посредством активных или нейтральных математических матриц. С другой стороны, взаимодействие основных компонентов или эффект переноса могут быть устранены за счет метода или физического устройства (физическая обработка, химические реагенты, длина трубки) и, следовательно, больше не нуждаются в числовых поправках.



**Обработка сигналов (т. е. численная оптимизация)**

**Коррекция эффекта переноса**

**Измерение**

**(Сигнал)**

**Усиление**

**(Прирост)**

**Линеаризация**

**Взаимодействия**

**(коррекция)**

**Калибровка**

**Отображение учетных записей**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Измерение | Нулевая отметка/холостая проба, повторяемость, стабильность, воспроизводимость. |
| 2 | Усиление | Чувствительность, нижний предел измерения; повторяемость. |
| 3 | Линеаризация | Диапазон линейности; верхний предел; точность. |
| 4 | Взаимодействия | Влияние других компонентов молока; точность. |
| 5 | Калибровка | Пригодность системы калибровки производителя; точность. |
| 6 | Эффект переноса | Влияние предыдущего ввода молока; повторяемость, точность. |

*Рисунок 1. Пример теоретического процесса измерения для обычных анализаторов. Каждый этап процесса измерения соответствует элементу схемы для общей точности метода. Минимизация общей ошибки достигается за счет минимизации каждого компонента, тем самым обеспечивается оптимизация каждого этапа процесса измерения. Затем определяется план эксперимента для оценки анализатора молока, чтобы убедиться в надлежащей корректировке каждого этапа измерения.*

На каждом этапе оценки, описанном в следующих параграфах, может потребоваться выполнение соответствующих пределов для каждого аналитического критерия (компонента) до начала следующего этапа.

4.2 Минимум необходимых анализов для выполнения оценки

В этой части определяются и описываются элементы анализа, которые являются обязательными для оценки.

Независимо от оцениваемого метода и элемента точности, оценка должна проводиться по результатам теста, отображенным в стандартизированных единицах; при этом не должно выполняться какое-либо предварительное преобразование данных (например, логарифмический или квадратный корень для подсчета соматических клеток). Результаты оценки должны соответствовать спецификациям, указанным в следующих параграфах.

4.2.1 Оценка предварительных инструментальных настроек

Перед началом какой-либо дальнейшей оценки необходимо проверить основные критерии, подтверждающие надлежащее функционирование метода или прибора. Этими критериями являются суточная прецизионность (включая повторяемость и кратковременную стабильность), перенос и линейность.

4.2.1.1 Суточная прецизионность (повторяемость и кратковременная стабильность)

В принципе, анализатор молока должен обеспечивать стабильность сигнала, соответствующую требованиям прецизионности. Если нет, то либо анализатор неисправен (и его не следует использовать), либо его прецизионность не соответствует цели анализа. Следовательно, непосредственная стабильность (повторяемость) и стабильность уровня сигнала должны оцениваться до любых других параметров.

В течение всего дня каждые 15-20 минут следует проводить анализ одной и той же пробы молока в трех параллельных анализах с помощью прибора без каких-либо изменений в настройке калибровки, чтобы получить как минимум 20 серий контрольных тестов. Желательно, чтобы прибор эксплуатировался в условиям, максимально приближенных к обычным. Поэтому следует подготовить достаточное количество образцов, чтобы прибор оставался в работе между периодическими проверками.

Прецизионность оценивается при трех различных концентрациях каждого компонента: низкой, средней и высокой. Для этого три разных пробы молока можно разделить на столько идентичных субпроб, сколько необходимо для анализа.

С помощью однофакторного дисперсионного анализа можно рассчитать оценку стандартного отклонения повторяемости (Sr), стандартного отклонения между контрольными сериями (Sc) и стандартного отклонения суточной воспроизводимости (SR), сверяясь с Приложением 1 (раздел 6 на стр. 19):

SR = (Sc2 + Sr2) 1/2

Полученные значения Sr и SR должны соответствовать предельным значениям, установленным для анализа учета надоев (см. Таблицу 2 и Таблицу 3).

Значимость нестабильности можно проверить с помощью F-критерия. В качестве альтернативы можно провести однофакторный дисперсионный анализ для подтверждения нестабильности сигнала.

4.2.1.2 Эффект переноса

Сильные различия в содержании компонентов между двумя последовательно анализируемыми пробами молока могут повлиять на результат последней пробы. Это может произойти из-за неполного промывания проточной системы и измерительной ячейки при циркуляции молока и/или загрязнения бывшего образца перемешивающим устройством. Оценивается общий эффект переноса (включая оба источника ошибок), с одной стороны, и эффективность промывания проточной системы, с другой стороны.

Автоматизированные анализаторы часто позволяют осуществлять коррекцию в процессе работы для компенсации общего эффекта переноса, когда это необходимо, поэтому:

a. Эффективность промывания проточной системы необходимо оценивать путем проведения испытаний без какой-либо коррекции (поправочный коэффициент равен нулю) в ручном режиме (в обход автоматизированной мешалки). Эффективность промывания должна быть не менее 99%, или внутренний перенос не должен превышать 1%.

b. Общий эффект переноса будет оцениваться с учетом поправочных коэффициентов, установленных для прибора или полученных с использованием метода, предоставленного производителем. Он не должен превышать значений, указанных для компонента для целей учета надоев.

**Метод**

a. Анализ

Повторить аналитическую последовательность (LL,LL,LH,LH) столько раз (n), сколько необходимо, где LL — образец с низкой концентрацией компонентов, а LH — образец с высокой концентрацией компонентов.

b. Пробы

- Перед анализом необходимо подготовить достаточное количество субпроб каждой пробы LL и LH, чтобы анализировать каждую субпробу только один раз.

- Предпочтительно, чтобы пробы LL и LH представляли собой молоко или жидкости с такой же вязкостью, что и молоко.

- Концентрации соответствующих компонентов должны значительно различаться. В зависимости от компонента и метода это может быть достигнуто с помощью естественного разделения (сливки в случае жира), искусственного разделения (ультрафильтрация в случае белка, микрофильтрация для соматических клеток) или добавления (лактоза и мочевина).

- Для определения биохимических компонентов предпочтительно, чтобы концентрации LL и LH были крайними значениями в диапазоне измерения. Напротив, при подсчете соматических клеток будет оцениваться перенос для трех различных высоких уровней клеток (500, 1000, 1500 10 3 клеток/мл) и одного низкого уровня клеток (предпочтительно использовать не содержащее соматических клеток молоко).

c. Расчет

- Рассчитать среднее значение и стандартные отклонения различий

dLi = L1i-L2i и dHi = H2i - H1i,

соответственно d, SdL, dH, SdH.

- рассчитать среднюю разность концентраций d̅C = H̅2 - L̅2

Затем получить коэффициенты переноса COR и их стандартные отклонения SCOR по следующим формулам:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| COR. (H/L) = d̅L · 100 /d̅C | и | SCOR. (H/L) = SdL · 100 / (d̅C · √n) |
| COR. (L/H) = d̅H · 100 /d̅C | и | SCOR. (L/H) = SdH · 100 / (d̅C · √n) |

Также COR можно получить с применением эквивалентных формул:

COR. (H/L) = (Σ L1 - Σ L2) · 100 / (Σ H2 - Σ L2) = L̅1 - L̅2) · 100 / (H̅2 - L̅2)

COR (L/H) = (Σ H2 - Σ H1) · 100 / (Σ H2 - Σ L2) = (H̅2 - H̅1) · 100 / (H̅2 - L̅2)

Два полученных значения не должны существенно отличаться друг от друга и не должны превышать предел (Lcor), установленный для компонента.

**Примечание**

a. **Приемлемый предел соответствия**: в худшем случае эффект переноса не должен давать в крайнем случае самой низкой и самой высокой концентрации диапазона измерения (ΔC) ошибку, превышающую допустимую для метода повторяемость r=2,√2,Sr. Следовательно, предел cor может быть определен как:

Lcor= (r / ΔC)x100

В стандартах обычно рекомендуется предел в 1-2%.

b. **Количество (n) аналитических последовательностей**: Его можно определить, чтобы получить возможность оценить значения COR при максимальном относительном доверительном интервале ±20% (т. е. 1±0,2%). Таким образом 2. Scor ≤ 0,20 · (COR)

 2. Sd · 100 / (dC · √n) ≤ 0,20 · (d · 100 / dC)

 n ≥ 100. (Sd / d)2

В стандартах обычно рекомендуется от 10 до 20 аналитических последовательностей.

4.2.1.3 Линейность

Согласно классическому определению косвенного метода, сигнал прибора должен быть результатом характеристики измеряемого компонента, что позволяет определить простую связь с концентрацией компонента.

Тем не менее, недавно разработанные непрямые методы могут основываться на гораздо менее специфичном сигнале, но при этом обеспечивать согласованные результаты по нескольким сигналам с помощью многомерных статистических подходов. Для этих последних линейность больше не является абсолютным требованием в каждом случае (за исключением некоторых специфических задач в молочной промышленности, т. е. для переработанного молока с возрастающим содержанием компонентов в результате концентрирования или разбавления). С тех пор для этих методов (в зависимости от аналитических целей) от этапа оценки линейности можно отказаться. Качество связи с эталоном будет оцениваться при оценке общей точности. В таком случае любое рутинное измерение за пределами калибровочного диапазона концентраций следует рассматривать как имеющее сомнительное качество и желательно не использовать.

Линейность выражает постоянство соотношения между увеличением измеряемого компонента молока и соответствующим увеличением измерения прибора. Поэтому линейность сигнала прибора в большинстве случаев важна для поддержания постоянной чувствительности по всему диапазону измерения и для облегчения калибровки и настройки. Кроме того, она позволяет проводить рутинные (в некоторой степени) измерения за пределами калибровочного диапазона концентраций посредством линейной экстраполяции калибровки в пределах диапазона оценки. Таким образом, это позволяет справиться с возможными конкретными ограничениями эталонных методов (например, подсчет соматических клеток для козьего молока).

Линейность можно оценить, используя наборы проб (n=8–15) с концентрациями компонентов, равномерно распределенными по всему диапазону измерения:

a. Предпочтительно, чтобы в качестве проб использовалось молоко или жидкости с такими же физическими характеристиками (т. е. плотностью, вязкостью), что и молоко, полученное путем точного разбавления (взвешивания) пробы с высоким содержанием пробой с низким содержанием.

b. Концентрации должны варьироваться через равные промежутки времени. В зависимости от компонента и метода это может быть достигнуто различными способами, например с помощью естественного разделения (сливки в случае жира), искусственного разделения (ультрафильтрация в случае белка, микрофильтрация для соматических клеток) или добавления (лактоза и мочевина).

c. Диапазон оцениваемых концентраций должен быть не ниже указанного в Таблице 1, §2.2. Тем не менее, специалист должен расширить диапазон оценки линейности, чтобы определить верхний предел для приемлемых измерений.

d. Эталоном для линейности будет либо объемное отношение компонентов смеси (объем/объем или масса/объем), либо их теоретические концентрации, рассчитанные на основе концентраций исходных проб (см. Приложение А стандарта IDF 141).

**Примечание**

Независимо от единиц выражения, эталонная величина для определения линейности должна соответствовать принципу измерения поступления, то есть она должна быть волюметрической для всех анализаторов молока, разработанных до настоящего времени, в отличие от взвешивания молока, которое весьма непрактично. С тех пор методика предусматривает соотношение объем/объем или масса/объем.

Тем не менее, использование соотношений масса/масса дает идентичные цифры при смешивании жидкостей с одинаковой плотностью.

Проанализировать каждый образец в трех параллельных анализах, сначала в порядке увеличения концентрации, затем в порядке уменьшения концентрации, и рассчитать уравнение линейной регрессии y=bx+a (y=прибор, x=коэффициент разбавления) и остатки ei (ei=yi -(bxi+a)) на основе данных параллельных анализов и соотношений разведения. Нанести на график остатки ei (ось y) в зависимости от коэффициента разбавления (ось x). Визуальный осмотр точек данных обычно дает достаточную информацию о линейности сигнала.

Рассчитать отношение диапазона остатков к диапазону значений сигнала:

De/DC = (emax - emin) / (Cmax - Cmin)

где:

emax и emin = верхний и нижний остатки соответственно

Cmax и Cmin = верхнее и нижнее значения сигнала соответственно.

DE/DC не должен превышать предел, указанный для компонента (обычно 1-2%):

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Критерии | Жир | Белок | Лактоза | Мочевина | ПСК |
| Ограничения для De/DC | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 0,02 |

В качестве альтернативы можно провести однофакторный дисперсионный анализ для подтверждения статистической значимости нелинейности, а статистические тесты сравнения дисперсий можно применить для подтверждения значимости различий между остаточными дисперсиями (см. Приложение).

Один из способов заключается в расчете полиномиальных регрессий с постепенным увеличением степени для определения наиболее подходящей настройки сигнала, то есть обеспечивающей минимальное стандартное отклонение Sy,x k (степень полинома не должна превышать 3 со значимым коэффициентом), и сравнение оценки Sy,x k с Sy,x линейной регрессии на основе значимого отношения или F-критерия.

Окончательное решение по поводу регулировки линейности прибора:

• Удовлетворительно если значение Sy,x ≤ Sy,xk

• Корректно если Sy,x > Sy,xk и DE/DC ≤ limit%

• Некорректно если Sy,x > Sy,xk и DE/DC > limit%

Использование статистического теста для сравнения остаточных дисперсий или стандартных отклонений (см. Приложение 1: Типовые статистические формулы для оценки методов на стр. 19).

4.2.1.4 Пределы измерения

Пределы измерения инструментального метода существуют на обоих концах аналитического диапазона — нижний предел и верхний предел.

Определение этих пределов не требуется в случае, когда диапазоны естественных концентраций соответствующих компонентов и видов в норме далеки от нуля (общий случай для биохимических компонентов, т. е. жира, белка, лактозы, мочевины) и находятся в диапазоне линейности метода. Определение и оценку пределов измерений проводят вместе с оценкой линейности.

4.2.1.4.1 Нижние пределы

Оценка нижних пределов в стандарте ISO 8196 (эквивалентном IDF 128) не рассматривается, поэтому для определения и общих принципов можно обратиться к стандарту EN ISO 16140:2000, посвященному альтернативным методам микробиологического анализа.

На дату редактирования этого документа с оценкой нижнего предела для учета надоев связан только подсчет соматических клеток.

4.2.1.4.1.1 Определение

Нижние пределы определяются тремя способами в зависимости от принятого риска ошибки и априорных требований к прецизионности:

• **Критический уровень (CL) или предел обнаружения**, представляющий собой наименьшее (отличное от нуля) количество, которое может быть обнаружено, но не выражено количественно как точное значение (риск β = 50%). Ниже этого уровня нельзя считать, что значение не является нулевым:

CL = u1-α · σ или CL = 1,645 · σ при α = 5% (1)

• **Предел чувствительности (DL)**, при котором ошибка второго рода минимизируется до определенного уровня, как правило, равного уровню риска σ (5%). Он заключается в наименьшем результате, значительно отличающемся от нуля (ошибка первого рода α), который может быть получен с достаточно малой вероятностью (ошибка второго рода β) включения пустого значения (нуля) и с достаточным доверительным интервалом

DL = (u1-α + u1-β) · σ или DL = 3,29 · σ при α = β = 5% (2)

• **Предел количественного определения (QL)** или предел определения, который представляет собой наименьшее количество аналита, которое может быть измерено и выражено количественно с определенным относительным стандартным отклонением SD% (или коэффициентом вариации CV%):

QL = kq · σ и SD% = σ /QL => kq = 1 / SD%

QL = DL => kq = 3,29 => SD% = 30% (3)

4.2.1.4.1.2 Соблюдаемые предельные значения

При подсчете соматических клеток DL счетчиков клеток молока не должен превышать 5000 клеток/мл, а SD% (CV%) на нижнем уровне (близком к нулю) не должен превышать 30%, при этом QL равен DL.

4.2.1.4.1.3 Стандартное отклонение σ

В анализе учета надоев, где в обычном порядке проводятся только однократные определения, σ представляет собой стандартное отклонение случайной ошибки измерения, то есть, в лучшем случае, стандартное отклонение воспроизводимости вблизи нулевого содержания.

Стандартное отклонение σ можно оценить разными способами:

• **Повторяемость зависит от уровней концентрации**: стандартное отклонение повторяемости (Sr) холостой (нулевой) пробы или расчетное стандартное отклонение при значениях концентрации, близких к нулю;

• **Повторяемость не зависит от уровней концентрации**: стандартное отклонение повторяемости (Sr), оцененное с использованием повторений на разных уровнях при оценке линейности,

• **Повторяемость и дисперсия выборки не зависят от уровней концентрации**: стандартное отклонение Sy(0) единичной оценки y(0) для x=0 с использованием уравнения линейной регрессии, рассчитанного при оценке линейности в линейной части, близкой к нулю:

Sy(0) = Sy,x. (1 + 1/q + x̅2 / SCEX)1/2

**Примечание**

В этом случае Sy(0) несколько завышает σ, поскольку учитывает ошибки выборки и ошибки оценки линии в дополнение к повторяемости.

4.2.1.4.2 Верхний предел

Верхний предел соответствует порогу, при котором сигнал или результат измерения значительно отклоняются от линейности (см. оценку линейности).

Достижение верхнего предела диапазона концентраций, рассматриваемого при оценке, приведет к тому, что отношение De/DC превысит допустимые пределы (см. линейность). Нанесение результатов оценки линейности на график предоставит необходимую информацию о форме отклика кривой.

Можно проверить, существенно ли отличаются измеренные верхние значения, отклоняющиеся от линейности yU, от y(xU), которые должно быть получены с помощью линейного уравнения (прогноза), рассчитанного на линейном диапазоне без учета этого результата:

tobs = | yU - y(xU) | / Sy(xU)

при S y(xU) = Sy,x · (1 + 1/q + (xU-x̅)2 / SCEx)1/2 и q-2 d.f. и α = 0,05

• если tobs ≤ t1-α/2 => отклонение от линейности в этой точке отсутствует

• если tobs > t1-α/2 => значительное отклонение от линейности в этой точке

4.2.2 Оценка общей точности

Для получения общей информации об этой части оценки можно обратиться к стандарту IDF 128.

Общая точность складывается из суммы ошибки воспроизводимости, точности (или ошибки оценок относительно эталона) и ошибки калибровки, которые возникают в обычных аналитических условиях.

Каждый элемент общей точности измеряется посредством анализа индивидуальных проб молока и проб молока в стаде определенных видов животных. Пробы стада должны отбираться в дополнение к индивидуальным пробам молока, чтобы более точно измерить часть дисперсии, связанную с эффектом стада.

Оценка должна выполняться на приборе в том же режиме (рабочие параметры, скорость, калибровка), который производитель намеревается предоставить клиентам (пользователям).

Если доступны разные скорости анализа, элементы общей точности будут оцениваться для более высокой и более низкой скорости.

a. **Калибровка**

Предусмотрена предварительная калибровка, которая должна быть выполнена для прибора (или в комплекте с ним) производителем при тщательном соблюдении соответствующей процедуры калибровки.

Если прибор будет использоваться напрямую без какой-либо локальной калибровки (настройки), инструментальные анализы оценки будут выполняться непосредственно на соответствующих (репрезентативных) пробах молока.

В случае необходимости локальной калибровки перед началом оценки будет проведена предварительная калибровка в соответствии с рекомендациями производителя и с использованием средств измерений.

b. **Пробы**.

Пробы молока должны отбираться и собираться в оптимальных условиях в отсутствие брака, который может привести к ошибочной оценке воспроизводимости. Индивидуальные пробы молока должны охватывать максимальный диапазон концентраций компонента в соответствии с Таблицей 1.

- **Калибровочные образцы.** Представляют собой образцы, подготовленные в соответствии с рекомендациями применимых стандартов или, в отсутствие стандартизированной процедуры, аналогично образцам для прогнозирования (половина для калибровки и половина для прогнозирования).

- **Образцы для прогнозирования**. Следует использовать как минимум 100 индивидуальных проб молока, взятых в 4-6 разных стадах, и 50 общих проб молока в стаде.

c. **Эталонные методы**

Эталонные методы должны быть стандартизированными; в любом случае, используемый метод должен быть полностью согласован с одним или несколькими международными эталонными методами (ISO, IDF, AOAC).

4.2.2.1 Оценка повторяемости

Повторяемость является основным критерием, показывающим, позволяет ли прибор получать результаты, соответствующие требованиям пользователя, а также является основным элементом внутреннего контроля качества. Поэтому каждый новый прибор должен соответствовать максимальному предельному значению повторяемости, указанному в применимом международном стандарте, чтобы удовлетворять критериям сертификации.

Пробы молока следует анализировать на приборе, откалиброванном в соответствии с рекомендациями производителя, желательно в двух параллельных анализах. Такое минимальное количество параллельных тестов приближено к фактическим условиям повторяемости и предотвращает возможный брак для жира. Серии из 15-20 проб молока дважды последовательно анализируют после восстановления исходных аналитических условий (т. е. температуры путем нагревания), при необходимости.

Затем стандартное отклонение повторяемости рассчитывается на основе результатов параллельных анализов, полученных для всего набора данных, а для критериев, охватывающих широкий диапазон концентраций, то есть более единицы 1 логарифмической шкалы (случай подсчета соматических клеток), оно рассчитывается по частям после разделения всего диапазона концентраций на разные части, как минимум на три части (т. е. низкая, средная и высокая концентрация).

Стандартное отклонение повторяемости рассчитывается по формуле стандарта IDF 128 (см. Приложение 1: Типовые статистические формулы для оценки методов на стр. 19):

Sr = ( σ Wi2 / 2q )1/2

где wj — разница между параллельными анализами пробы i (wi = x1i — x2i) и q — номер пробы.

Сравнить полученные значения (Sr) со стандартизированными значениями повторяемости (σr), определенными для критериев и способов применения в Таблицах 2 и 3. Ожидается, что

Sr ≤ σr · (X21-α /q)1/2.

4.2.2.2 Оценка точности среднего значения

Согласно стандарту IDF 128, ошибка точности среднего делится на ошибку точности калибровки и ошибку точности (точность оценок).

Используемые статистические параметры указаны в стандарте IDF 128 и суммированы в Приложении 1 (начиная со страницы 19): d̅; Sd; Sy,x; наклон (b); t-критерий Стьюдента для d̅ и b.

Они получены на основе простой линейной регрессии, рассчитанной с использованием инструментальных результатов параллельных анализов (x) и так называемых эталонных результатов (y), полученных с помощью эталонного метода, признанного ICAR (два параллельных анализа).

4.2.2.2.1 Оценка точности

Точность оценивается отдельно для молока отдельных животных и молока всего стада.

Он измеряется через остаточное стандартное отклонение Sy,x простой линейной регрессии инструментальных результатов (x) и эталонных результатов (y).

Ожидается, что различия с линией регрессии распределяются нормально, поэтому любые отклоняющиеся результаты необходимо тщательно изучить. В случае отклоняющихся результатов следует повторно проанализировать другую часть той же разделенной пробы, используя эталон и анализатор (по возможности). В противном случае, или в случае повторного получения отклоняющегося значения, в отчете следует представить расчеты Sy,x и графики, включающие все данные — с выявленными отклоняющимися показателями, их количеством и соответствующими смещениями — и тот же расчет Sy,x после исключения отклоняющихся показателей. Статистические методы, используемые для выявления отклоняющихся показателей, должны быть приведены в отчете об оценке. Доля отклоняющихся показателей не должна превышать 5%.

Расчетное значение Sy,x должно соответствовать предельным значениям σy,x, определенным для индивидуальных проб молока и проб молока в стаде, приведенным в Таблицах 2 и 3.

Ожидается, что

Sy,x ≤ σy,x .[X21-α / (q-2)]1/2.

Для критериев, охватывающих широкий диапазон концентраций, т. е. свыше 1 единицы логарифмической шкалы (случай подсчета соматических клеток), оценку точности следует проводить для всего диапазона и для последовательных частей диапазона после разделения всего диапазона концентраций на разные части, как минимум на три части (т. е. низкая, средная и высокая концентрация).

Таблица 2. Значения прецизионности для проб молока среднего содержания (коровы, козы).

|  | Пределы, установленные ICAR | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Жир | Белок | Лактоза | Мочевина |  |
| Критерии (единицы) | (г/100 г) | (г/100 г) | (г/100 г) | (мг/100 г) | ПСК (%) |
| **Повторяемость** |  |  |  |  |  |
| Среднее Sr | 0,014 (1) | 0,014 (1) | 0,014 (1) | 1,4 (2) | 4% (1) |
| L / M / H |  |  |  |  | 8% / 4% / 2% |
| **Воспроизводимость** |  |  |  |  |  |
| Среднее SR (SR%) | 0,028 (1) | 0,028 (1) | 0,028 (1) | 2,8 (2) | 5% (1) |
| L / M / H |  |  |  |  | 10% / 5% / 2,5% |
| **Достоверность** |  |  |  |  |  |
| Животные Sy,x | 0,10 (1) | 0,10 (1) | 0,15 (2) | 6,0 (2) | 10% (2) |
| Стада Sy,x | 0,07 (1) | 0,07 (1) | 0,07 (2) | 4,0 (2) | 10% (2) |

(1) Ограничения в соответствии со стандартом IDF 141C и 148A.

(2) Пределы, полученные на основе экспериментальных результатов и IDF 141C (SR~2.Sr).

**Примечание**

Для лактозы стандарт IDF 141C рекомендует те же пределы Sy,x, что и для жира и белка; их трудно соблюсти в связи с неудовлетворительным качеством химического метода, доступного в качестве эталонного на тот момент.

Таблица 3. Значения прецизионности для образцов молока с высоким содержанием (овцы, буйволы, определенные виды коров/коз). Получено на основе пределов средних уровней путем применения соответствующих соотношений уровней: 2 для жира и белка; 1 для лактозы и мочевины.

|  | | Пределы, установленные ICAR | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Критерии | | Жир | Белок | Лактоза | Мочевина |  |
| Позиции (Units) | | (г/100 г) | (г/100 г) | (г/100 г) | (мг/100 г) | ПСК (%) |
| **Повторяемость** | |  |  |  |  |  |
|  | Среднее SR (SR%) | 0,028 | 0,028 | 0,014 | 1,4 | 4% |
|  | L / M / H | (0,35%) | (0,4) | (0,3%) | (2%) | 8% / 4% / 2% |
| **Воспроизводимость** | |  |  |  |  |  |
|  | Среднее SR (SR%) | 0,056 (1) | 0,056 (1) | 0,028 (1) | 2,8 (2) | 5% |
|  | L / M / H | (0,7%) | (0,8%) | (0,6%) |  | 10% / 5% / 2,5% |
| **Достоверность** | |  |  |  |  |  |
|  | Животные Sy,x (Sy,x%) | 0,20 (2,5%) | 0,20 (3,0%) | 0,15 | 6,0 | 10% |
|  | Стада Sy,x (Sy,x%) | 0,14 (1,75%) | 0,14 (2,0%) | 0,07 | 4,0 | 10% |

4.2.2.2.2 Оценка точности калибровки

Перед анализом прибор калибруется в соответствии с процедурой, рекомендованной производителем, и показатели выражаются в тех же единицах, что и при использовании эталонного метода оценки. В этом случае необработанные сигналы не учитываются, и дальнейшие статистические сравнения могут выполняться в одной шкале как для инструментальных, так и для эталонных значений, что позволяет проводить классические тесты на идентичность и оценки в сопоставлении со стандартизированными целевыми значениями. С этой целью будут проанализированы пробы от отдельных животных и всего стада, что позволит предоставить соответствующую информацию о качестве корректировки.

В зависимости от принципа метода, качество калибровки может в большей или меньшей степени зависеть от репрезентативности калибровочных образцов в дополнение к применяемому методу калибровки (т. е. математической модели, плану эксперимента, процессу). Таким образом, источники ошибки репрезентативности должны быть максимально уменьшены, например путем отбора калибровочных образцов в условиях, близких или идентичных тем, которые использовались при сборе образцов молока для прогнозирования.

Точность калибровки следует оценивать с использованием параметров регрессии y=b·x+a: среднее смещение d и наклон b (см. Приложение 1, начиная со стр. 19, и стандарт IDF 128) с учетом возможных отклоняющихся показателей, как указано в разделе «Оценка точности» на стр. 13. Оценки d и b обычно должны удовлетворять ограничениям, указанным в Таблице 4. Невыполнение этой задачи обычно приводит к необходимости дальнейших исследований или объяснений.

Таблица 4. Предварительные ориентировочные пределы ICAR для оценки точности калибровки.

a. Средний уровень (коровы, козы)

| **Критерии** | **Жир** | **Белок** | **Лактоза** | **Мочевина** | **ПСК** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Среднее смещение d | ±0,05 (1) | ±0,05 (1) | ±0,05 (1) | ±2,5 (2) | ±5% (2) |
| Наклон b | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (2) | 1±0,05 (2) |

b. Высокий уровень (овцы, буйволы, козы)

| **Критерии** | **Жир** | **Белок** | **Лактоза** | **Мочевина** | **ПСК** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Среднее смещение d | ±0,10 (1) | ±0,10 (1) | ±0,10 (1) | ±2,5 (2) | ±7% (2) |
| Наклон b | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (1) | 1±0,05 (1) | 1±0,07 (2) |

(1) Ограничения в соответствии со стандартом IDF 41C.

(2) Пределы, полученные на основе экспериментальных результатов.

4.3 Дополнительные информативные исследования

Следующие пункты не являются обязательными элементами для оценки, хотя они представляют интерес как возможные составляющие общей точности метода, а знания, которые можно получить о методе, могут иметь значение при работе с пробами молока (отбор проб, консервирование, транспортировка и т. д.). Следовательно, их можно считать информативными для надлежащего использования метода только в том случае, если он получает сертификацию ICAR на основании первой части. Тем не менее, в целях сертификации ICAR и для общего сведения было бы очень полезно провести их однократную оценку, если информация от производителей недоступна.

4.3.1 Устойчивость к изменению условий

Устойчивость — это способность прибора не подвергаться влиянию внешних элементов, за исключением собственно измеряемого компонента. Возможные эффекты могут быть вызваны изменением концентрации или взаимодействий основных компонентов молока (в зависимости от прибора они могут быть компенсированы взаимными поправками), биохимическими изменениями компонента молока, связанными с консервацией (липолиз, протеолиз, молочномикислое скисание) или химическими веществами, добавленными в молоко (например, консервантами).

Принцип измерения устойчивости заключается в том, чтобы осуществить значимое изменение каждого взаимодействующего компонента по отдельности и измерить соответствующее изменение показателей воздействующего компонента. Затем вычисляется соотношение (наблюдаемая разница)/(введенное изменение), выраженное в соответствующих единицах.

4.3.1.1 Влияние основных компонентов молока (взаимодействия)

В отношении состава молока (жир, белок, лактоза) следует обратиться к Приложению B стандарта IDF 141 для получения информации о процедурах подготовки проб и расчетов: метод единичной вариации или метод множественной вариации путем рекомбинации некоррелированных наборов проб молока.

Влияние мочевины на показатели других компонентов будет оцениваться путем добавления мочевины в молоко, как это предлагается для лактозы.

Влияние высокого содержания жира и белка на количество соматических клеток в молоке (овец, коз и буйволов) будет оцениваться с использованием сливок (натуральное образование сливок) и ультраконцентрата молока посредством рекомбинации, аналогично указанному в IDF 141.

Эффект лучше измерять на трех соответствующих уровнях для взаимодействующего компонента и вида (т. е. низкий, средний и высокий). Требуются минимум два сильно отличающихся уровня, оптимально — три.

4.3.1.2 Влияние биохимических изменений компонентов

Биологические изменения в молоке обычно приводят к негативному влиянию на измеряемый компонент молока. Они могут быть вызваны ростом бактерий в молоке или активностью ферментов, которые прямо или косвенно влияют на измеряемые компоненты молока. За исключением случаев, когда в результате скисания происходит свертывание молока, невозможно оперативно и без применения сложных методов отличить такое испорченное молоко от хорошо сохранившихся проб, и оно обычно поступает на анализ. Таким образом, чувствительность метода измерения компонентов молока к таким способам порчи может представлять интерес, в частности, для оценки при рутинном учете надоев пригодности условий отбора проб и транспортировки, от которых зависит качество сохранности проб.

Свертывание, сбивание и оседание жира являются более очевидными пороками молока, влияние которых на результаты анализа в первую очередь резко (невозможность анализа) или существенно зависит от однородности молока и репрезентативности поступления. В таких случаях пороки могут быть легко идентифицированы, а образцы отбракованы.

4.3.1.2.1 Липолиз

Можно связать изменения в показателях с наиболее подходящим показателем липолиза (кислотность молочного жира) после искусственной индукции повышенного липолиза (охлаждение и действие нативной липазы или добавление бактериальной липазы (т. е. Pseudomonas)). Уровень липолиза повышают минимум до 5 мэкв/100 г жира.

Требуется не менее 5 уровней. Эффект существует, если рассчитанный коэффициент вариации (наклон линейной регрессии) значительно отличается от 0,00.

4.3.1.2.2 Протеолиз

Можно связать изменения в показателях с наиболее подходящим индикатором протеолиза (сывороточный белок или растворимый азот SN) после достижения протеолиза (т. е. с использованием протеаз микрофлоры). Можно попытаться получить минимальный диапазон 0,8% SN в молоке. Требуется не менее 5 уровней. Эффект существует, если рассчитанный коэффициент вариации (наклон линейной регрессии) значительно отличается от 0,00.

4.3.1.2.3 Молочно-кислое закисание

Начинается добавление в молоко молочной кислоты в постепенно возрастающих количествах. Требуется не менее 5 уровней. Необходимо убедиться в том, что верхний слой не сворачивается при температуре водяной бани, чтобы не повредить жидкостную систему прибора.

Изменения показателей будут связаны с количеством добавленной молочной кислоты. Эффект существует, если рассчитанный коэффициент вариации (наклон линейной регрессии) значительно отличается от 0,00.

4.3.1.3 Влияние «истории» и условий обработки пробы

Условия оптимального хранения проб молока хорошо известны, однако они часто не соответствуют оптимальным с точки зрения экономики. Например, известно, что сочетание охлаждения и хранения при температуре около 4°C с консервантом, таким как бронопол (2-бром-2-нитро-1,3-пропандиол), обеспечивает достаточно хорошую консервацию чистых (незагрязненных) проб молока. Эти оптимальные условия в большинстве случаев применяются для калибровочных и контрольных проб молока. В одной лаборатории могут существовать различные условия хранения образцов в зависимости от их происхождения (разные типы химических консервантов, сроки годности и температура).

Поэтому представляется уместным определить, насколько различия в условиях хранения могут повлиять на аналитические результаты, полученные с помощью прибора, и предоставить соответствующую информацию организациям и лабораториям, ведущим учет надоев, для целей правильного выбора аналитического оборудования и методов обработки проб.

Для получения практических выводов в отношении каждого элемента, концентрации компонентов должны охватывать обычный диапазон и должно быть определено количество образцов в серии, чтобы можно было сделать заключение о положительном эффекте на основе статистически значимых различий (обычно достаточно от 30 до 40).

4.3.1.3.1 Влияние добавленных химических веществ (консервантов)

Различия в аналитических результатах будут измеряться путем сравнения идентичных параллельных серий образцов молока, для консервации которых применялись различные химические вещества, используемых в обычных условиях. Чтобы не допустить искажения результатов, другие параметры консервации должны быть одинаковыми. Необходимо оценить влияние как типа вещества, так и концентрации.

4.3.1.3.2 Влияние температуры поступления молока

Аналитический прибор может быть чувствителен к условиям окружающей среды, связанным с его аналитическим принципом (т. е. влажность, температура, вибрации), и располагать системами для компенсации этих источников нарушения работы прибора. Производители предоставляют инструкции относительно мер предосторожности, которые должны соблюдать пользователи, в частности, в отношении температуры пробы по отношению к внутренней температуре прибора. Кроме того, полезно знать, насколько велик эффект в пределах диапазона температур для проб молока, анализируемых в рутинном порядке, что позволяет улучшить подготовку образца перед анализом (т. е. температуру и время нагрева). Сравнение эффекта двух крайних пределов (нижнего и верхнего), рекомендуемых производителями, на идентичном наборе различных проб молока даст достаточную информацию.

4.3.1.3.3 Влияние условий хранения (т. е. времени и температуры)

Температура пробы может определять физический аспект компонентов молока (например, кристаллизацию глицеридов жира, растворимость казеина и минеральной фракции).

Кроме того, время хранения может определить способность молока восстанавливать свои физические и химические свойства перед анализом. Часто бывает так, что сливки, отделенные от обезжиренного молока, затвердевают настолько сильно, что могут возникнуть трудности с их повторным равномерным введением в молоко. В таких случаях могут оставаться скопления жировых шариков, которые станут источником проблем в приборе (например, гомогенизация молока в инфракрасных устройствах). Влияние различных пар (время/температура) можно измерить путем сравнения с применением оптимального метода сохранения, определенного в качестве эталонного.

4.3.2 Практические выгоды (этап II)

Способность лаборатории получать аналитические результаты в течение ожидаемого времени и по ожидаемой или предусмотренной стоимости включает различные элементы. Эти практические и экономические элементы оцениваются на этапе II общей оценки в течение определенного периода времени и в ряде лабораторий, как указано в разделе «Этапы оценки и общие принципы» на стр. 3.

4.3.2.1 Скорость

Проверяется заявленная производителем скорость. В случае доступности разных скоростей, которые были успешно протестированы на Этапе I, характеристики прецизионности следует указывать вместе с информацией об используемой скорости.

4.3.2.2 Устойчивость к изменению внутренних параметров

Частота неисправностей и сервисных операций будет регистрироваться в соответствии с характером произошедших инцидентов.

4.3.2.3 Контрольное и обслуживающее оборудование

Отмечается удобство использования процедуры калибровки на основании дружественности интерфейсов и программного обеспечения по отношению к пользователю. Отмечаются удобство поиска и устранения неисправностей, ремонта и обслуживания, а также слабые места устройств, чтобы пользователи могли знать о них и иметь возможность с ними справиться.

4.3.2.4 Проверка прецизионности в обычных условиях

Рутинные проверки инструментов на Этапе II оценки проводятся посредством применения внутреннего контроля качества согласно рекомендациям соответствующих руководств ICAR, а результаты будут регистрироваться и представляться в дополнение к отчету по Этапу I.

5 Предоставление отчетов и сертификатов

Отчеты об оценке как для Этапа I, так и для Этапа II должным образом представляются в специальных документах со всеми необходимыми сведениями о ходе оценки, таблицами результатов измеренных аналитических характеристик, обсуждениями или комментариями и резюме.

Необработанные результаты должны быть доступны в бумажном формате и на магнитных записях для компьютера (например, на магнитных носителях, CD, DVD) и в формате записи, совместимом с обычными программами расчета данных.

Материал отчета предоставляется ICAR организацией, запрашивающей сертификацию ICAR, в соответствии с условиями, определенными в разделе «Этапы оценки и общие принципы» на стр. 3.

6 Приложение 1: Типовые статистические формулы для оценки методов

6.1 Применение в оценке прецизионности

Стандартное отклонение повторяемости: (q уровней и n параллельных анализов)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
|  | или |  |

**Стандартное отклонение суточной воспроизводимости:** (q контрольных тестов и n параллельных анализов)

SR2= Sx̅2 - Sr2·(1-1/n)

и

SR2 = Sc2 + Sr2

**Стандартное отклонение по результатам всех контрольных проверок**

Sc = (Sx̅2 - Sr2/n)1/2

6.2 Применение в оценке точности

Средние значения

х̅=∑ xi / q

y̅=∑ yi / q

d̅=∑ di / q

**Сумма квадратов и произведений**

SCEx = ∑ (xi - x̅)2 =∑ xi2 - (∑ xi)2 / q

SCEY = ∑ (yi - y̅)2 =∑ yi2 - (∑ yi)2 / q

SCEd = ∑ (di - d̅)2 =∑ di2- (∑ di)2 / q

SPEXY = ∑ (xi - x̅) · (yi - y̅) =∑ xi·yi - ∑ xi·∑ yi / q

**Наклон**

b = SPEXY / SCEX

**Точка пересечения**

a = y̅ - b · x̅

**Оценка x**

y(x) = bx + a

**Условное среднее для x**

y(x) = bx + a

**Остаток (е)**

e = y - y̅ (x) = y - b·x - a

**Разность (d)**

d = x - y

**Коэффициент корреляции**

r = (SPEXY2 / (SCEY. SCEX))1/2

**Стандартные отклонения**

• **разности (d)**

Sd = ( SCE d / (q-1)) 1/2

Sd = ((SCEY2+ SCEX2- 2·SPEXY) / (q-1))1/2

• **остатков (ei):**

Sy,x = (∑(yi-b·xi-a)/(q-2))1/2

Sy,x = ((SCEY2-SPEXY2/ SCEX) / (q-2))1/2

Sy,x = (SCEY·(1-r2) / (q-2))1/2

• **наклона (b)**

Sb = Sy,x / SCE1/2

• **Точки пересечения (а)**

Sa = Sy,x (1/q +x2 / SCEX)1/2

**условного среднего y (x0)**

Sy(x0) = Sy,x (1/q + (x0 - x̅)2 / SCEX)1/2

• **оценки у(х0)**

S y(x0) = Sy,x (1 + 1/q + (x0 - x)2 / SCEX)1/2

**Тесты на соответствие**

• **соответствие оценки:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| • | наклон b отн. 1000: | tobs = | b-1,000 | / Sb ≤ t 1-α/2  при q-2 d.f. и α = 0,05 |
|  |  |  |
| • | наклон b отн. 0,00: | tobs = | b | / Sb ≤ t 1-α/2  при q-2 d.f. и α = 0,05 |
|  |  |  |
| • | средняя разница d̅ отн. 0,00: | tobs = | d̅ | / (Sd / √q) ≤ t1-α/2  при q-1 d.f. и α = 0,05 |
|  |  |  |
| • | или (когда b ≠ 1000) x̅ отн. y̅: | tobs = | x̅ - y̅ | / (Sy,x / √q) ≤ t1-α/2  при q-2 d.f. и α = 0,05 |
|  |  |  |
| • | Точка пересечения a отн. 0,00: | tobs = | a | / Sa ≤ t1-α/2  при q-2 d.f. и α = 0,05 |

условное среднее y̅ (xo) по сравнению с эталонным значением yo или остаток eo по сравнению с 0,00

eo = yo - y (xo) = yo - b q-1·xo+a q-1

Sy̅ (x0) = Sy,x q-1·(1/(q-1) + (xo - y̅q-1)2 / SCEx q-1)1/2

tobs = |eo| / Sy̅ (x0) ≤ t1-α/2

при q-3 d.f. и α = 0,05

 Для обнаружения отклоняющихся показателей или отклонений от линейности: проверить, принадлежит ли точка Mo(xo, yo) линейной кривой, рассчитанной без этой точки.

• **соответствие стандартного отклонения S относительно σ**

**⮚** Метод 1 (Chi2)

σ2 ≤ k·S2 /X21-α S ≤ σ·(X21-α / k)1/2

при k d.l. и a = 0,05

**⮚** Метод 2 (стандарт ошибки) (может заменить метод 1 для k > 50)

S - u1-α . S /√2k’ ≤ σ S ≤ σ / (1 - u1-α /√2k’)

с данными k' и α = 0,05

• **Проверка линейности**

**⮚** сравнение линии с полиномом степени ak (уменьшение остаточной ошибки на):

Fobs = ((n-2)·Sy,x2 - (n-k-1)·Sy,xk 2) / (k-1)·Sy,xk 2 < F1-α

или

Sy,x / Sy,xk < ((F1-α ·(k-1) + (n-k-1)) / (n-2))1/2

при: n выборок, k полиномиальных степеней,

k1 = k-1, k2 = qk-1 и риск ошибки.

**⮚** Эффект образца или уровня интерпретируется как линейность по сравнению с повторяемостью:

Fobs = (n·Ss2 + Sr2)/ Sr2 = (n·(Sd̅2 - Sr2/n) + Sr2)/ Sr2 = n·Sd̅2/ Sr2 < F1-α

или Sd̅ / Sr < (F1-α /n)1/2

где: n параллельных анализов, d̅ = разность средних значений параллельных анализов, k1 = q-2, k2 = q·(n-1) и риск ошибки α.

**Примечание**

k1 = q-1 при тестировании влияния источника вариации без регрессии (однофакторный дисперсионный анализ)

7 Приложение 2: Примеры расчета и представления

7.1 Оценка предварительных инструментальных настроек

7.1.1 Суточная прецизионность: пример жирности, проанализированной методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141)

| Тест № q | Параллельные анализы | Сумма | Среднее m | Среднее смещение d | Номер теста n | Сумма квадратов SOS | Дисперсия Var | В пределах проверки Sr(i) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 4,00  4,03  4,01 | 12,04 | 4,013 | 0,008 | 3 | 0,000467 | 0,000233 | 0,015 |
| 2 | 4,02  4,03  4,02 | 12,07 | 4,023 | 0,018 | 3 | 0,000067 | 0,000033 | 0,006 |
| 3 | 4,01  4,00  4,00 | 12,01 | 4,003 | -0,002 | 3 | 0,000067 | 0,000033 | 0,006 |
| 4 | 3,99  4,00  4,02 | 12,01 | 4,003 | -0,002 | 3 | 0,000467 | 0,000233 | 0,015 |
| 5 | 3,99  4,01  4,01 | 12,01 | 4,003 | -0,002 | 3 | 0,000267 | 0,000133 | 0,012 |
| 6 | 3,97  3,99  4,00 | 11,96 | 3,987 | -0,018 | 3 | 0,000467 | 0,000233 | 0,015 |
| 7 | 4,01  4,00  3,98 | 11,99 | 3,997 | -0,008 | 3 | 0,000467 | 0,000233 | 0,015 |
| 8 | 4,02  4,02  3,99 | 12,03 | 4,010 | 0,005 | 3 | 0,000600 | 0,000300 | 0,017 |
| 9 | 4,01  4,00  4,03 | 12,04 | 4,013 | 0,008 | 3 | 0,000467 | 0,000233 | 0,015 |
| 10 | 3,99  3,99  4,01 | 11,99 | 3,997 | -0,008 | 3 | 0,000267 | 0,000133 | 0,012 |
| Сумма  Среднее  SD | 120  150  4,005 | 120  150 | 40,050  4,005  0,010 | 0,000  0,000  0,010 | 30 | 0,00360  0,000180 | 0,00180  0,000180 | 0,013 |

7.1.1.1 Проверка однородности дисперсии в рамках проверок

В силу:

Индекс Кокрана = Var(max) / сумма Var < предел Кокрана => предел SD = (предел Кокрана x сумма Var) 1/2

=> Предел Кокрана (P=0,95; 2; 10) = 0,445 => Предел SD = 0,0283 никогда не меньше наблюдаемых значений SD => допустимая однородность дисперсии

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Суточная воспроизводимость:** | SR=(Sm 2 - Sr 2·(1-1/n)) 1/2 | SR = 0,015 | < 0,028 => соответствует IDF 141 |
| **Дисперсия в рамках проверок:** | Sc = (Sm 2 - Sr 2 /n) 1/2 | Sc = 0,007 |  |
| **Повторяемость** | Sr = (Sum Sr(i)2 / q) 1/2 | Sr = 0,013 | < 0,014 => соответствует IDF 141 |

| **Источник изменчивости** | **df** | **Сумма площадей** | **Средние квадраты** | **SD** | **Жир** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Между тестами | 9 | 0,002950 | 0,00032778 | 0,018 | 1,821 |
| В тестах | 20 | 0,003600 | 0,00018 | 0,013 |  |
| Итого | 29 | 0,00655 | 0,00022586 | 0,015 |  |

**Выводы**

a. При Fobs = 1,82 меньше, чем F0,95 = 2,39, стабильность оценивается положительно: существенного сдвига инструментальной реакции не наблюдается.

b. При SD остатка = 0,013 меньше, чем Sr = 0,014, функционирование инструмента оценивается положительно: нет аномальных индивидуальных колебаний.

7.1.2 Оценка предварительных инструментальных настроек

7.1.2.1 Эффект переноса: на примере жирности, проанализированной методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141)

| Последовательность  № | Концентрации | | | | Различия | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| LL1 | LL2 | HL1 | HL2 | DL | dH |
| 1 | 0,00 | -0,01 | 3,98 | 3,99 | 0,010 | 0,010 |
| 2 | 0,01 | -0,01 | 3,99 | 4,01 | 0,020 | 0,020 |
| 3 | 0,00 | -0,02 | 3,97 | 3,99 | 0,020 | 0,020 |
| 4 | -0,01 | -0,02 | 3,97 | 3,98 | 0,010 | 0,010 |
| 5 | -0,01 | -0,02 | 3,96 | 3,98 | 0,010 | 0,020 |
| 6 | 0,01 | 0,00 | 3,98 | 4,00 | 0,010 | 0,020 |
| 7 | 0,00 | -0,02 | 3,99 | 4,01 | 0,020 | 0,020 |
| 8 | 0,01 | -0,01 | 3,97 | 3,99 | 0,020 | 0,020 |
| 9 | -0,01 | -0,02 | 3,98 | 3,99 | 0,010 | 0,010 |
| 10 | 0,01 | -0,01 | 3,99 | 4,00 | 0,020 | 0,010 |
| Среднее значение | 0,001 | -0,014 | 3,978 | 3,994 | 0,015 | 0,016 |
| Стандартное отклонение | 0,009 | 0,007 | 0,010 | 0,011 | 0,005 | 0,005 |
| Нет | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| t-критерий Стьюдента |  |  |  |  | 9,00 | 9,80 |
| Минимум | -0,01 | -0,02 | 3,96 | 3,98 | 0,01 | 0,01 |
| Максимум | 0,01 | 0,00 | 3,99 | 4,01 | 0,02 | 0,02 |
| D=Макс.-Мин. | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,01 | 0,01 |

Среднее значение смещения dL и dH является значимым согласно t-критерию Стьюдента *t* 0,975 = 2,26

|  | Значение | Доверит. мин. | Доверит. макс. |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| COR (H/L) | 0,37 | 0,28 | 0,49 | COR ниже i% => соответствует |
| COR (L/H) | 0,40 | 0,31 | 0,47 | COR ниже i% => соответствует |

7.2 Оценка линейности: на примере жирности, проанализированной методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141)

Набор образцов постепенного разбавления молока 10%-ной жирности обезжиренным молоком

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Испытание № | % разбавления (м./об.), X | Параллельные анализы | | | Средняя концентрация C Y | Среднее значение остатка e | Стандартное отклонение Станд. откл. повторяемости |
| 1 | 2 | 3 |
| 1 | 15,50 | 1,54 | 1,52 | 1,53 | 1,530 | -0,023 | 0,010 |
| 2 | 20,35 | 2,02 | 2,02 | 2,02 | 2,020 | -0,013 | 0,000 |
| 3 | 25,64 | 2,55 | 2,56 | 2,55 | 2,553 | -0,003 | 0,006 |
| 4 | 31,18 | 3,10 | 3,11 | 3,12 | 3,110 | 0,005 | 0,010 |
| 5 | 34,80 | 3,49 | 3,48 | 3,49 | 3,487 | 0,024 | 0,006 |
| 6 | 39,80 | 3,97 | 3,99 | 4,00 | 3,987 | 0,029 | 0,015 |
| 7 | 45,15 | 4,50 | 4,50 | 4,51 | 4,503 | 0,016 | 0,006 |
| 8 | 50,50 | 5,02 | 5,02 | 5,01 | 5,017 | 0,000 | 0,006 |
| 9 | 56,65 | 5,61 | 5,63 | 5,62 | 5,620 | -0,006 | 0,010 |
| 10 | 61,95 | 6,11 | 6,13 | 6,12 | 6,120 | -0,030 | 0,010 |
| Уровень N | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 0,009 |
| Среднее значение | 38,152 | 3,791 | 3,796 | 3,797 | 3,795 | 0,000 |
| SD | 16,428 | 1,622 | 1,631 | 1,626 | 1,626 | 0,020 |
| Минимум | 15,500 | 1,540 | 1,520 | 1,530 | 1,530 | -0,030 |  |
| Максимум | 61,950 | 6,110 | 6,130 | 6,120 | 6,120 | 0,029 |
| D=Макс.-Мин. | 46,450 | 4,570 | 4,610 | 4,590 | 4,590 | 0,059 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Линейная регрессия на | Параллельные анализы | Средние значения |
| Наклон | 0,09898 | 0,09898 |
| Точка пересечения | 0,01856 | 0,01856 |
| Нет | 30 | 10 |

|  |  |
| --- | --- |
| SD средних значений остатков: | Se = 0,0203 |
| SD повторяемости: | Sr = 0,0088 |
| SD смещения уровня: | Sl = 0,0197 (рассчитано по Sl = (Se2-Sr 2/n) 1/2) |

**Испытания**

**А - соотношение** De = 0,059

DC = 4,590

|  |
| --- |
| De/DC =0,013 < 0,01=> Вывод: линейность по умолчанию |

**B - Смещение по проверке линейности с использованием Sd средних значений остатков**

Fobs=(Sr 2 + n.Sl 2 ) / Sr 2 = n.Se 2 /Sr 2 должно быть ниже F0,95 = 2,45 при k1=q-2 и k2=q.(n-1)

|  |
| --- |
| Fobs = 16,17 > F0,95 = 2,45 => Вывод: линейность по умолчанию |

к1 = 8

к2 = 20

**C - Дисперсионный анализ на основе линейной регрессии по индивидуальным данным: (эквивалентно b-)**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Источник изменчивости | df | Сумма площадей | Средние квадраты | SD | Жир |
| Регрессия | 1 | 63,4522972 | 63,4522972 | 7,966 | 827638,66 |
| Между уровнями | 8 | 0,009916 | 0,001239516 | 0,035 | 16,17 |
| Внутри уровней | 20 | 0,001533 | 7,66667E -05 | 0,009 |  |
| Итого | 29 | 63,46374667 | 2,188405057 | 1,479 |  |

|  |
| --- |
| > F0,95 = 2,45 => Вывод: линейность по умолчанию |

**D - Соответствие полиному 2-й и 3-й степени**

В силу:

Sy,x / Sy,xk < ((F1-a .(k-1) + (n-k-1)) / (n-2))1/2

при: n образцах, k степенях полинома, k1 = k-1, k2 = qk-1 и риске ошибки.

| Полином | b3 | b2 | b1 | a |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 3 степень | -0,000001 | 0,000014 | 0,102190 | -0,056563 |
| 2 степень |  | -0,000087 | 0,105744 | -0,093564 |
| 1 степень |  |  | 0,098975 | 0,018563 |

| Полином | Sy,xk | d.f. | Sy,xk/Sy,x3 | F0,95 | Пределы | Sy,xk/Sy,x2 | F0,95 | Пределы |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 3 степень | 0,010 | 26 | 1,00 |  |  |  |  |  |
| 2 степень | 0,010 | 27 | 1,01 | 4,23 | 1,21 | 1,00 |  |  |
| 1 степень | 0,020 | 28 | 2,07 | 3,37 | 1,26 | 2,05 | 4,21 | 1,18 |

|  |
| --- |
| **Выводы**:  Полиномиальная корректировка как 2-й, так и 3-й степени может значительно улучшить линейность в соответствии с пределами, определенными F-критериями => линейность по умолчанию. Тем не менее, корректировки 2-й степени достаточно, так как между полиномиальной корректировкой 2-й и 3-й степени не отмечается значительного различия. |

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Оценка линейности** | | | | | | | |
|  | **Инструментальная реакция** |  | | | | |  |
|  |  | **Разбавление, % (м./об.)** | | | | |  |
|  |  |  | | | | |  |
|  |  |  |  | Инструментальные результаты |  | Линия линейной регрессии |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Оценка линейности** | | | |
| **% разбавления** |  | | |
|  |  |  | Остатки линейной регрессии |
|  | **Средние значения остатков** |

7.3 Примеры: оценка предварительных инструментальных настроек

7.3.1 Оценка линейности

Набор образцов молока с постепенным разбавлением молока с высоким содержанием клеток молоком с низким содержанием клеток

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Испытание № | % разбавления (м./об.), X | Средняя концентрация  Да | Остатки e регр. i-2i | Остатки e регр. i-9 | Соотношение  De/DC | Станд. откл., прогноз Sy,xi | t-критерий Стьюдента по линии |  |
| 1 | 0,0 | 7,2 | -25,2 | -4,9 |  | 5,538 | -1,006 |  |
| 2 | 5,4 | 131,2 | -18,2 | -2,2 | 0,022 | 5,255 | -0,464 |  |
| 3 | 10,1 | 238,8 | -12,4 | -0,2 | 0,021 | 5,054 | -0,039 |  |
| 4 | 15,2 | 356,5 | -5,1 | 3,0 | 0,023 | 4,884 | 0,645 |  |
| 5 | 19,7 | 461,7 | 2,6 | 7,1 | 0,026 | 4,776 | 1,559 |  |
| 6 | 24,4 | 564,0 | 3,1 | 3,8 | 0,022 | 4,704 | 0,849 |  |
| 7 | 30,2 | 689,7 | 3,2 | -0,7 | 0,018 | 4,675 | -0,163 |  |
| 8 | 35,0 | 800,2 | 9,7 | 2,0 | 0,015 | 4,699 | 0,433 |  |
| 9 | 39,9 | 900,5 | 3,9 | -7,8 | 0,017 | 4,770 | -1,714 |  |
| 10 | 44,9 | 1013,5 | 8,6 | -7,1 | 0,015 | 4,889 | -1,541 |  |
| 11 | 49,6 | 1122,8 | 16,1 | -3,4 | 0,013 | 5,045 | -0,719 |  |
| 12 | 55,3 | 1249,3 | 19,1 | -4,9 | 0,012 | 5,292 | -1,020 |  |
| 13 | 59,8 | 1348,5 | 20,8 | -6,8 | 0,011 | 5,530 | -1,379 |  |
| 14 | 64,5 | 1441,7 | 12,2 | -19,1 | 0,018 | 5,821 | -3,804 | <- верхний предел t0,975 |
| 15 | 69,9 | 1561,0 | 14,6 | -21,1 | 0,018 | 6,208 | -4,066 | = 2,365 при P=5% |
| 16 | 74,6 | 1653,5 | 5,3 | -34,2 | 0,025 | 6,590 | -6,389 | и 7 df |
| 17 | 79,4 | 1766,5 | 14,3 | -29,0 | 0,023 | 7,024 | -5,248 |  |
| 18 | 84,6 | 1865,2 | 0,4 | -47,1 | 0,029 | 7,545 | -8,226 |  |
| 19 | 89,7 | 1983,8 | 8,5 | -43,0 | 0,027 | 8,105 | -7,253 |  |
| 20 | 95,5 | 2074,8 | -26,1 | -82,3 | 0,043 | 8,804 | -13,312 |  |
| 21 | 100,0 | 2143,0 | -55,4 | -115,2 | 0,057 | 9,391 | -18,038 |  |
| Уровень | 21 | 21 | 21 | 9 |  | 9 | 9 |  |
| Числ. | 49,89 | 1113,02 | 0,00 | 0,00 |  |  |  |  |
| Среднее значение  Стандартное отклонение | 30,95 | 670,56 | 18,957 | 4,905 |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| Минимум | 0,00 | 7,20 | -55,39 | -7,80 | 0,02 | 4,67 | -1,71 |  |
| Максимум | 100,00 | 2143,00 | 20,84 | 7,10 | 0,03 | 5,54 | 1,56 |  |
| D=Макс.-Мин. | 100,00 | 2135,80 | 76,23 | 14,90 | 0,01 | 0,86 | 3,27 |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |

7.3.2 Оценка пределов измерения: пример счетчика соматических клеток (см. IDF 148)

**а - Нижний предел: 10 измерений, близких к нулю**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Данные | 3 | 5 | 4 | 3 | 5 |
| Данные | 4 | 5 | 3 | 5 | 4 |
| Среднее значение | 4,100 |  | |  | |
| Стандартное отклонение | 0,876 |  | |
| CV% | 21,4 | < 30% => соответствует | |
| DL | 2,881 | < 5000 => соответствует | |
| Нет | 10 |  | |

**b - Верхний предел: Регрессия: Наклон b = 22,4603 Точка пересечения a = 12,1324**

На рисунке идентификация линейной части; расчет уравнения регрессии y = b.x+a на линейной части (уровень 1-9) по всему диапазону, расчет:

• остатков: ei = yi - y(xi) = yi - b.xi - a

• t-критерия для остатков: tobs = | ei | / Sy,x · (1/q + (xi -m(x) )2 / SCEx)1/2

Заключение

• Начиная с уровня №14, отклонение от линейности наблюдается с t набл, значимым при P = 0,95.

• N°14 соответствует увеличению критерия соотношения остаточного диапазона/диапазона концентрации.

7.4 Оценка линейности: Пример счетчика соматических клеток (см. IDF 148)

SD средних значений остатков: Se =19,0 (измеренное)

SD повторяемости: Sr =16,4 (измеренное)

SD смещения уровня: Sl = 16,4231 (рассчитанное по Sl = (Se2-Sr2/n)1/2)

**Проверки линейность**

a. Соотношение (по всему диапазону, т. е. от 1 до 21)

|  |  |
| --- | --- |
| De/DC = 0,036 > 0,02 | **Вывод** : линейность по умолчанию |

**Примечание**

Этот тест прост в применении и обычно рекомендуется для быстрых проверок в рутинной работе, тем не менее, из-за неравномерности остаточного рассеяния при ПСК важно подтвердить его графическим исследованием графика остатков.

b. Смещение по проверке линейности

Fobs=(Sr 2 + n.Sl 2 ) / Sr 2 = n.Se 2 /Sr 2 должно быть ниже F0,95 = 1,84

(в трех параллельных анализах на 21 уровне)

|  |
| --- |
| Fobs = 4,01 > F0,95 = 1,84 => **Вывод**: линейность по умолчанию |

**Примечание**

Этот тест предполагает, что параллельные анализы выполняются на каждом уровне и что дисперсия остатков является единообразной по всему диапазону, что редко наблюдается (и поэтому не является строго необходимым) при ПСК из-за очень большого масштаба (4 логарифмических шкалы: от 10 3 до 10 6 ).

Он больше подходит для химических анализов, но тем не менее может считаться достаточно информативным для ПСК.

c. Соответствие полиному 2-й и 3-й степени

=> Проверка: Sy,x / Sy,xk < ((F1-a .(k-1) + (nk-1)) / (n-2)) 1/2

при: n выборок, k полиномиальных степеней,

k1 = k-1, k2 = qk-1 и риск ошибки.

| Средняя концентрация Да | % разбавления  (м/об) Х | % разбавления  (м/об) X2 | % разбавления  (м/об) X3 | Остатки  Х2 | Остатки  Х3 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 7,2 | 0,0 | 0,0 | 0 | 5,4 | -5,9 |
| 131,2 | 5,4 | 29,2 | 157 | 2,6 | -1,6 |
| 238,8 | 10,1 | 102,0 | 103,0 | 0,7 | 1,1 |
| 356,5 | 15,2 | 231,0 | 351,2 | 0,7 | 4,4 |
| 461,7 | 19,7 | 388,1 | 764,5 | 2,8 | 8,3 |
| 564,0 | 24,4 | 595,4 | 14527 | -1,8 | 4,7 |
| 689,7 | 30,2 | 912,0 | 27544 | -6,8 | -0,4 |
| 800,2 | 35,0 | 1225,0 | 42875 | -3,5 | 2,0 |
| 900,5 | 39,9 | 1592,0 | 63521 | -11,7 | -7,6 |
| 1013,5 | 44,9 | 2016,0 | 90519 | -8,4 | -6,2 |
| 1122,8 | 49,6 | 2460,2 | 122024 | -1,4 | -1,2 |
| 1249,3 | 55,3 | 3058,1 | 169112 | 2,1 | 0,0 |
| 1348,5 | 59,8 | 3576,0 | 213847 | 5,2 | 1,4 |
| 1441,7 | 64,5 | 4160,3 | 268336 | -1,3 | -6,5 |
| 1561,0 | 69,9 | 4886,0 | 341532 | 4,6 | -1,7 |
| 1653,5 | 74,6 | 5565,2 | 415161 | -0,7 | -7,2 |
| 1766,5 | 79,4 | 6304,4 | 500566 | 13,3 | 7,5 |
| 1865,2 | 84,6 | 7157,2 | 605496 | 5,8 | 1,8 |
| 1983,8 | 89,7 | 8046,1 | 721734 | 21,2 | 20,4 |
| 2074,8 | 95,5 | 9120,3 | 870984 | -4,0 | 0,8 |
| 2143,0 | 100,0 | 10000,0 | 1000000 | -25,0 | -14,3 |
| 21 | 21 | 21 | 21 | 21 | 21 |
| 1113,02 | 49,89 | 3401,16 | 260958 | 0,00 | 0 |
| 670,56 | 30,95 | 3207,87 | 310802 | 9,14 | 7 |
| 7,20 | 0,00 | 0,00 | 0 | -24,98 | -14 |
| 2143,00 | 100,00 | 10000,00 | 1000000 | 21,20 | 20 |
| 2135,80 | 100,00 | 10000,00 | 1000000 | 46,18 | 35 |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Полином | b3 | b2 | b1 | a |
| 3 степень | -0,000256 | 0,019324 | 22,068420 | 13,063507 |
| 2 степень |  | -0,019194 | 23,580701 | 1,847156 |
| 1 степень |  |  | 21,660009 | 32,390894 |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Полином | Sy,xk | d.f. | Sy,xk/Sy,x3 | F0,95 | Пределы | Sy,xk/Sy,x2 | F0,95 | Пределы |
| 3 степень | 7,78 | 17 | 1,00 |  |  | 0,81 |  |  |
| 2 степень | 9,63 | 18 | 1,24 | 4,45 | 1,09 | 1,00 |  |  |
| 1 степень | 18,96 | 19 | 2,44 | 3,59 | 1,15 | 1,97 | 4,41 | 1,09 |

**Примечание**

Этот тест можно запустить со всеми данными (параллельные анализы) или только со средними значениями (пример), в зависимости от необходимой чувствительности.

Обычно требуется, чтобы дисперсия остатков была единообразной по всему диапазону, что обычно не достигается при подсчете клеток. Тем не менее, при нанесении остатков на график его можно считать достаточно информативным для оценки линейности ПСК.

**Выводы**

Значительное улучшение за счет полиномов 2-й и 3-й степени, которые подтверждают линейность по умолчанию

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Кривая линейности** | | | | | | |
|  | **Концентрация (1000 клеток/мл)** | Теоретическая концентрация  Измеренная концентрация | | | | |
|  |  | **% разбавления (м./об.)** | | | | |
|  |  |  | | | | |
|  |  |  |  | Инструментальное измерение |  | Теоретическая концентрация |
|  |  |  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Отклонение от линейности \* Распределение остатков по всему диапазону концентраций**  (Подгонка кривой в линейной части 0-900 000 клеток/мл) | | | | |
|  | | | | |
|  | **Остатки (х 1000 клеток/мл)** | Верхний предел | | |
|  |  | **Средние концентрации (х 1000 клеток/мл)** | | |
|  |  |  | | |
|  |  |  |  | Смещение по линейности (регрессия от 0 до 900) |
|  |  |  |  |  |

7.5 Оценка общей точности: Пример для жирности

Проанализировано методом инфракрасной спектроскопии (см. IDF 141).

Набор индивидуальных образцов коровьего молока

| Испытание № | Эталонный метод Y | Инструментальный метод | | | | Повторяемость | Достоверность | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Проба 1  Х1 | Проба 2  Х2 | Среднее значение  X | Оценки  Y/xi | Смещение  w=|X1-X2| | Различия d=X-Y | остатки |
| 1 | 1,89 | 1,92 | 1,94 | 1,930 | 1,90 | 0,02 | 0,04 | -0,006 |
| 2 | 1,98 | 2,05 | 2,06 | 2,055 | 2,03 | 0,01 | 0,07 | -0,045 |
| 3 | 2,48 | 2,55 | 2,56 | 2,555 | 2,54 | 0,01 | 0,07 | -0,061 |
| 4 | 2,66 | 2,56 | 2,56 | 2,560 | 2,55 | 0,00 | -0,10 | 0,114 |
| 5 | 3,10 | 3,16 | 3,13 | 3,145 | 3,15 | 0,03 | 0,04 | -0,049 |
| 6 | 3,23 | 3,20 | 3,22 | 3,210 | 3,22 | 0,02 | -0,02 | 0,014 |
| 7 | 3,37 | 3,31 | 3,34 | 3,325 | 3,33 | 0,03 | -0,04 | 0,035 |
| 8 | 3,57 | 3,51 | 3,50 | 3,505 | 3,52 | 0,01 | -0,06 | 0,050 |
| 9 | 3,53 | 3,51 | 3,50 | 3,505 | 3,52 | 0,01 | -0,02 | 0,010 |
| 10 | 3,52 | 3,57 | 3,57 | 3,570 | 3,59 | 0,00 | 0,05 | -0,067 |
| 11 | 4,02 | 4,00 | 4,01 | 4,005 | 4,04 | 0,01 | -0,01 | -0,016 |
| 12 | 4,15 | 4,05 | 4,09 | 4,070 | 4,10 | 0,04 | -0,08 | 0,047 |
| 13 | 4,59 | 4,52 | 4,51 | 4,515 | 4,56 | 0,01 | -0,08 | 0,028 |
| 14 | 4,61 | 4,59 | 4,57 | 4,580 | 4,63 | 0,02 | -0,03 | -0,019 |
| 15 | 5,10 | 5,06 | 5,06 | 5,060 | 5,12 | 0,00 | -0,04 | -0,024 |
| 16 | 5,23 | 5,18 | 5,19 | 5,185 | 5,25 | 0,01 | -0,04 | -0,022 |
| 17 | 5,49 | 5,44 | 5,44 | 5,440 | 5,52 | 0,00 | -0,05 | -0,025 |
| 18 | 5,61 | 5,48 | 5,47 | 5,475 | 5,55 | 0,01 | -0,14 | 0,058 |
| 19 | 5,80 | 5,74 | 5,76 | 5,750 | 5,84 | 0,02 | -0,05 | -0,035 |
| 20 | 5,89 | 5,80 | 5,78 | 5,790 | 5,88 | 0,02 | -0,10 | 0,014 |
| Нет | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее значение | 3,991 | 3,960 | 3,963 | 3,962 | 3,991 | 0,014 | -0,030 | 0,000 |
| SD | 1,260 | 1,223 | 1,219 | 1,221 | 1,259 | 0,011 | 0,059 | 0,047 |
| Минимум | 1,890 | 1,920 | 1,940 | 1,930 | 1,896 | 0,00 | -0,14 | -0,07 |
| Максимум | 5 890 | 5,800 | 5,780 | 5,790 | 5,876 | 0,04 | 0,07 | 0,11 |
| D=Макс.-Мин. | 4,000 | 3,880 | 3,840 | 3,860 | 3,980 | 0,04 | 0,21 | 0,18 |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Параметр | Оценка | Пределы | Совпадение |
| Повторяемость | Станд. откл. повторяемости | 0,012 | 0,014 | Да |
| Достоверность | Среднее значение d | -0,030 | +/-0,050 | Да |
|  | Sd (= Sx-y) | 0,059 | 0,100 | Да |
|  | Нет | 20 |  |  |
|  | t obs | 2,218 | t0,975 = 2,093 | Р<0,05 |
|  | df | 19 |  |  |
| Регрессия | Наклон b | 1,0311 | 1+/-0,05 | Да |
|  | Sb | 0,0088 |  |  |
|  | tobs b ср.1 | 3,511 | t0,975 = 2,101 | Р<0,001 |
|  | Точка пересечения а | -0,0935 |  |  |
|  | Sa | 0,037 |  |  |
|  | tobs a ср. 0 | 2,556 | t0,975 = 2,101 |  |
|  | df | 18 |  |  |
|  | Sy,x | 0,047 | 0,100 | Да |

**Заключение**

Точность прибора соответствует предельным значениям, установленным для анализируемого компонента, например жира в коровьем молоке.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Оценка точности** | | | | |
|  | **Эталонный метод (% жира)** |  | | |
|  |  |  | Среднее X | Инструментальный метод (% жира) |
|  |  |  | Теоретическая линия Y=X |  |
|  |  |  | линия регрессии |  |
|  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Оценка точности - Распределение различий относительно эталонного метода** | | | | | | |
| **Разница Инструмент-эталон**  **(% жира)** | | |  | | | |
|  |  | разница d=X-Y | |  | Линия регрессии | Эталонный метод (% жира) |
|  |  |  | |  |  |  |