

**TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 9663:2013  
ISO 21543:2006**

Xuất bản lần 1

**SẢN PHẨM SỮA – HƯỚNG DẪN ÁP DỤNG  
ĐO PHỔ HỒNG NGOẠI GẦN**

*Milk products – Guidelines for the application  
of near infrared spectrometry*

HÀ NỘI - 2013

## Lời nói đầu

TCVN 9663:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 21543:2006;

TCVN 9663:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12  
*Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo Lường  
Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

## Sản phẩm sữa - Hướng dẫn áp dụng đo phổ hồng ngoại gần

*Milk products - Guidelines for the application of near infrared spectrometry*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này đưa ra hướng dẫn sử dụng phép đo phổ hồng ngoại gần để xác định:

- hàm lượng chất khô tổng số, chất béo và protein trong phomat;
- độ ẩm, hàm lượng chất béo, protein và lactose trong sữa bột, whey bột và buttermilk bột;
- độ ẩm, hàm lượng chất béo, chất khô không béo và muối trong bơ.

### 2 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

#### 2.1

**Thiết bị đo phổ hồng ngoại gần** (near infrared instrument)

**Thiết bị NIR** (NIR instrument)

Thiết bị chuyên dụng được sử dụng trong các điều kiện quy định trong tiêu chuẩn này để ước tính các phần khối lượng của các chất quy định trong Điều 1.

#### 2.2

**Hàm lượng chất khô tổng số, độ ẩm, chất khô không béo, chất béo, protein, lactose và muối** (total solids, moisture, non-fat solids, fat, protein, lactose and salt contents)

Phần khối lượng của các chất xác định được bằng phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này.

**CHÚ THÍCH:** Các hàm lượng này được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

### 3 Nguyên tắc

Mẫu được xử lý sơ bộ để thu được mẫu thử đồng nhất có thành phần hóa học đặc trưng của nguyên liệu mẫu thử. Cho phần mẫu thử đồng nhất vào hộp đựng mẫu của máy đo phổ NIR. Đo độ hấp thụ tại

các bước sóng trong vùng hồng ngoại gần và dữ liệu quang phổ được chuyển về các nồng độ thành phần bằng các mẫu hiệu chuẩn được xây dựng trên các mẫu đại diện từ lượng được thử nghiệm.

#### 4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

4.1 Etanol hoặc dung môi thích hợp khác hoặc hỗn hợp chất tẩy rửa, để làm sạch cốc đựng mẫu sử dụng nhiều lần.

#### 5 Thiết bị, dụng cụ

5.1 Thiết bị đo phổ hồng ngoại gần (NIR), dựa trên phép đo sự truyền hoặc phản xạ khuếch tán trong toàn bộ vùng bước sóng hồng ngoại gần từ 700 nm đến 2500 nm hoặc các phân đoạn của chúng hoặc tại các bước sóng được chọn.

Nguyên tắc hoạt động quang học có thể là phân tán (ví dụ: máy đơn sắc cách tử), đo giao thoa hoặc không nhiệt (ví dụ: diot phát quang, diot laze hoặc laze). Thiết bị này cần được trang bị hệ thống thử chẩn đoán độ nhiễu của hệ thống đo quang, độ chính xác của bước sóng và độ chụm của bước sóng (máy quang phổ quét). Độ chính xác của bước sóng cần lớn hơn 0,5 nm và độ lệch chuẩn lặp lại lớn hơn 0,02 nm.

Thiết bị này cần được trang bị hộp đựng mẫu, cho phép đo một thể tích mẫu hoặc có bề mặt đủ lớn để loại trừ được mọi ảnh hưởng do thành phần hóa học hoặc các đặc tính vật lý của mẫu thử không đồng đều. Chiều dài đường quang của mẫu (bề dày của mẫu) trong các phép đo đường truyền cần được tối ưu hóa theo hướng dẫn của nhà sản xuất liên quan đến cường độ tín hiệu để thu được tuyến tính và tỷ lệ tín hiệu/nhiều lớn nhất. Trong các phép đo phản xạ, để loại trừ các tác dụng làm khô thì cửa sổ thạch anh hoặc vật liệu thích hợp khác cần được phủ một lớp mẫu tương tác.

Cốc đựng mẫu (cuvet) có thể là loại sử dụng nhiều lần hoặc bằng nguyên liệu sử dụng một lần.

5.2 Dụng cụ xay hoặc bào, thích hợp để chuẩn bị mẫu (ví dụ: máy bào thực phẩm dùng cho phomat bán cứng).

Việc thay đổi các điều kiện xay hoặc bào có thể ảnh hưởng đến phép đo NIR.

#### 6 Hiệu chuẩn và đánh giá xác nhận ban đầu

##### 6.1 Chọn mẫu hiệu chuẩn

Thiết bị NIR cần được hiệu chuẩn trước khi sử dụng. Vì bản chất phức tạp của bộ dữ liệu đo phổ hồng ngoại gần, mà chủ yếu là các âm bội và hỗn hợp các dải phổ của các dao động cơ bản trong vùng

hồng ngoại giữa, nên thiết bị cần được hiệu chuẩn sử dụng các dây mẫu tự nhiên (thường ít nhất là 120 mẫu).

Độ chính xác và độ vững chắc của các điều kiện hiệu chuẩn phụ thuộc vào cách chọn mẫu và hiệu chuẩn. Các điều kiện hiệu chuẩn được xây dựng chỉ có giá trị đối với các mẫu nằm trong phạm vi của các mẫu hiệu chuẩn. Do đó, bước đầu tiên trong việc xây dựng hiệu chuẩn là xác định phạm vi áp dụng (ví dụ: loại mẫu và dải nồng độ). Khi các mẫu hiệu chuẩn được chọn, thì chú ý để đảm bảo rằng tất cả các yếu tố chính ảnh hưởng đến độ chính xác của phép hiệu chuẩn nằm trong giới hạn áp dụng đã định. Các yếu tố này bao gồm:

- a) hỗn hợp và dải nồng độ của các thành phần lớn và nhỏ của mẫu: chất phân tích (ví dụ: chất khô tổng số, chất béo và protein) và chất không phải là chất phân tích;
- b) ảnh hưởng thời vụ, địa lý và tính di truyền lên thành phần cấu tạo của sữa;
- c) kỹ thuật và điều kiện chế biến;
- d) các giai đoạn chín của phomat;
- e) bảo quản và điều kiện bảo quản.

Độ chính xác của việc hiệu chuẩn bị ảnh hưởng bởi mức độ dao động trong vật liệu mẫu và dải nồng độ của chất phân tích. Độ dao động trung bình thường để đáp ứng hơn so với độ dao động lớn. Nếu không thu được độ chính xác yêu cầu qua việc hiệu chuẩn đơn thì vùng áp dụng cần được chia nhỏ thành các phân vùng linh hoặc phân vùng động, mỗi phân vùng có một phép hiệu chuẩn tương ứng nhằm thỏa mãn các yêu cầu. Các phân vùng động được sử dụng trong thuật toán hồi quy trong số các mẫu hiệu chuẩn gần trong khoảng trống phổ với mẫu dự đoán thực được chọn từ lượng mẫu lớn hơn để xây dựng công thức hiệu chuẩn cục bộ.

Thường thì tốt nhất là toàn bộ dải hiệu chuẩn được bao trùm thống nhất với các mẫu có nồng độ các chất phân tích từ thấp đến cao. Dàn đều mẫu sao cho càng đồng nhất càng tốt để phản ánh được những biểu hiện khác, kể cả các biến thiên đã đề cập trên. Ngoài ra, các mẫu cần được chọn và đo trong một khoảng thời gian nhất định để đảm bảo phản ánh được các ảnh hưởng của sự phụ thuộc vào thời gian. Các điều kiện này sẽ tăng độ vững chắc và cho hiệu năng hiệu chuẩn đều hơn trên khắp dải nồng độ phân tích.

Có thể sử dụng các phương pháp đa biến <sup>[1], [2]</sup> để chọn mẫu nhằm đảm bảo dãy hiệu chuẩn đồng đều bao trùm tất cả các biến thiên trong dữ liệu quang phổ tạo ra do các yếu tố hóa học, sinh học và vật lý mà không lặp lại mẫu với thông tin tương tự. Trong thực tế, lượng mẫu lớn hơn được đo bằng quang phổ NIR chỉ để chọn dữ liệu NIR. Sau đó, các mẫu khác nhau về thông tin phổ được chọn để phân tích đối chứng. Có thể nhận biết sự khác nhau của các mẫu qua việc kiểm tra đồ thị thu được từ phân tích thành phần chính (PCA), ví dụ: sử dụng ba thành phần đầu tiên. Trong trường hợp nhiều mẫu, điều này có thể ít sử dụng hơn trong thực tế. Tuy nhiên, nên thực hiện PCA và kiểm tra đồ thị để thu được

cái nhìn tổng thể về bộ mẫu. Nhiều phép phân tích nhóm chính thức hơn có thể thu được bằng cách sử dụng các kỹ thuật dựa trên các phép đo khoảng cách<sup>[2]</sup>. Qua một quãng thời gian có thể bổ sung thêm mẫu vào các mẫu đã chọn sử dụng vùng PCA hoặc phép đo khoảng cách để nhận biết sự khác nhau của các mẫu.

## 6.2 Phép phân tích đối chứng và phép đo NIR

Cần sử dụng các phương pháp đối chứng đã được chấp nhận ở cấp quốc tế để xác định các chất phân tích. Phương pháp đối chứng được sử dụng để hiệu chuẩn cần được kiểm soát thống kê; nghĩa là độ biến thiên nên gồm một hệ thống ổn định của các biến thiên ngẫu nhiên. Để hỗ trợ cho đánh giá các trường hợp ngoại lệ, có thể tiến hành các phép phân tích lặp lại trong các dãy độc lập (những người phân tích khác nhau, dụng cụ phân tích khác nhau...).

Tất cả các biến thiên chính trong các điều kiện đo NIR mà có thể xuất hiện trong thực tế cần được đưa vào mô hình hiệu chuẩn. Một yếu tố quan trọng đó là nhiệt độ của mẫu.

Quy trình lấy mẫu được sử dụng và cỡ mẫu được đo bằng phép đo NIR có thể là tới hạn cho độ chính xác thu được<sup>[3]</sup>. Thể tích mẫu thử hoặc tương tác bề mặt trong các phép đo cần đủ lớn để tránh ảnh hưởng xấu từ mẫu không đồng nhất. Phép đo phản xạ tại các bước sóng cao hơn thường yêu cầu bề mặt mẫu rộng hơn so với phép đo độ truyền ở các bước sóng ngắn hơn vì ánh sáng xuyên qua ít hơn nhiều. Cỡ mẫu tối ưu cần được xác định theo kinh nghiệm khi mẫu đã chuẩn bị (xem 9.1) được xác định lặp lại sau khi bao gói lại trong cốc đựng mẫu.

Đặc biệt chú ý tránh ảnh hưởng do khô bề mặt, cụ thể là trong các phép đo phản xạ.

Tốt nhất là thực hiện các phép đo NIR và phân tích đối chứng trên cùng một mẫu thử để loại trừ các ảnh hưởng liên quan đến độ không đảm bảo do lấy mẫu. Các phép đo NIR và bắt đầu các phép phân tích đối chứng cũng cần được tiến hành nhanh (tốt nhất là ít hơn một ngày). Cần tiến hành tốt để mẫu ngẫu nhiên đại diện cho cả phép phân tích đối chứng và phép đo NIR.

## 6.3 Hiệu chuẩn

Do các phép đo NIR áp dụng các hệ thống hiệu chuẩn khác nhau, nên không có quy trình cụ thể nào cho việc hiệu chuẩn. Tuy nhiên, người thực hiện hiệu chuẩn cần am hiểu về nguyên tắc thống kê trong thuật toán hiệu chuẩn được sử dụng.

Việc hiệu chuẩn có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật khác nhau [ví dụ: hồi quy đa tuyến tính (MLR) các thuật toán đa biến như hồi quy bình phương nhỏ nhất từng phần (PLS), hồi quy trọng số cục bộ (LWR) hoặc mạng thần kinh nhân tạo (ANN)]. Nên sử dụng các kỹ thuật sau nếu xuất hiện có vấn đề về tuyến tính giữa sự đáp ứng phổ và thành phần. Cần ít nhất 120 mẫu hiệu chuẩn để thực hiện các phép hiệu chuẩn thô bằng MLR và PLS. Khi dùng kỹ thuật ANN để hiệu chuẩn thì cần sử dụng một lượng mẫu cao hơn bình thường để tránh điều chỉnh dữ liệu vì ANN là những hàm rất dễ

biến động với nhiều thông số cần xác định. Thường cần đến ba bộ dữ liệu khác nhau để xác định cấu trúc, sự phù hợp của các thông số và tính hiệu lực của hệ thống mạng lưới. Khái niệm về LWR cũng cần đến cơ sở dữ liệu lớn hơn đáng kể từ các mẫu hiệu chuẩn cục bộ được chọn.

Quang phổ thường được xử lý trước khi hiệu chuẩn để loại bỏ hoặc giảm các ảnh hưởng không liên quan đến sự hấp thụ hóa học của ánh sáng. Các biện pháp xử lý được dùng là hiệu chỉnh phân tán nhiều lần (MSC)<sup>[4]</sup>, biến thiên chuẩn đã chuẩn hóa (SNV)<sup>[5]</sup>, hiệu chỉnh và các đạo hàm bậc một hoặc bậc hai<sup>[2]</sup>. Phép biến đổi tối ưu và các kỹ thuật xử lý phổ sơ bộ khác (ví dụ: độ nhẵn) cần được xác định bằng thực nghiệm. Một vài kỹ thuật thường cho các kết quả tương đương. Các kỹ thuật tối ưu cần được đánh giá qua xác nhận hiệu lực khi các mô hình được xây dựng trên các phần dữ liệu và được thử nghiệm trên các phần khác<sup>[6]</sup>. Có thể thu được thông tin bổ sung từ phép thử trên bộ thử nghiệm độc lập.

Vấn đề quan trọng là sự lựa chọn số lượng biến thiên tối ưu (trong kỹ thuật MLR) hoặc các hệ số (trong các hiệu chuẩn đa biến). Nếu sử dụng quá ít các biến thiên hoặc hệ số thì sẽ thu được kết quả dưới mức phù hợp, nghĩa là mô hình không đủ lớn để thu được độ biến thiên trọng yếu trong dữ liệu. Nếu sử dụng quá nhiều các biến thiên hoặc hệ số thì sẽ thu được kết quả trên mức phù hợp, khi đó nhiều dữ liệu thừa. Cả hai trường hợp này đều có thể dẫn đến dự đoán không tốt về mẫu sau này. Số lượng tối ưu có thể xác định được bằng vẽ đồ thị RMSECV (xem Điều 7) thu được từ đánh giá xác nhận chéo hoặc RMSEP (xem Điều 7) thu được từ bộ phép thử độc lập với một lượng các biến thiên hoặc hệ số (xem Hình B.1). RMSECV (RMSEP) điển hình là lớn đối với các lượng nhỏ các hệ số và giảm theo sự tăng dần của số lượng, trước khi tăng trở lại khi số lượng này lớn dần. Nhìn chung, giải pháp tốt nhất là một số cho RMSECV (RMSEP) thấp nhất với các biến thiên hoặc hệ số ít nhất.

Các kết quả đối chứng cần được dựng theo các giá trị dự đoán thu được bằng đánh giá xác nhận chéo. Đồ thị cần được xác định đối với các trường hợp ngoại lệ. Đồ thị cũng cần được nghiên cứu tại các vùng với các mức khác nhau về độ chính xác dự đoán, ngẫu nhiên hoặc mang tính hệ thống mà có thể chỉ ra sự cần thiết cần nhiều mẫu hiệu chuẩn hơn hoặc sự phân vùng của vùng hiệu chuẩn.

## 6.4 Ngoại lệ trong hiệu chuẩn

### 6.4.1 Yêu cầu chung

Các ngoại lệ có thể liên quan đến dữ liệu NIR (các ngoại lệ  $x$ ) hoặc sai số trong dữ liệu chuẩn hoặc các mẫu có mối quan hệ khác nhau giữa dữ liệu đối chứng và dữ liệu NIR (các ngoại lệ  $y$ ).

### 6.4.2 Ngoại lệ $x$

Mô hình dự đoán thô cần đến bộ hiệu chuẩn đồng nhất của các mẫu có phổ tương tự. Bộ mẫu này cũng có thể hình thành cơ sở của hệ thống cảnh báo ngoại lệ. Do đó, trước khi hiệu chuẩn cần loại bỏ mọi ngoại lệ  $x$ . Các kế hoạch trong năm hệ trục PCA đầu tiên có thể giúp cho việc phát hiện các ngoại

lệ  $x$  khi nằm ngoài toàn bộ quần thể hoặc rơi vào khoảng trống trong khoảng không PCA. Việc nhận biết chính thức hơn về các ngoại lệ có thể thực hiện bằng cách, ví dụ: áp dụng nguyên tắc khoảng cách Mahalanobis trên dữ liệu giảm PCA<sup>[7]</sup> hoặc còn được gọi là nguyên tắc đôn bầy<sup>[8]</sup>.

Hình B.2 nêu trường hợp thực tế không có các ngoại lệ. Trong Hình B.3 có ngoại lệ  $x$ .

#### 6.4.3 Ngoại lệ $y$

Khi quan sát thấy ngoại lệ  $y$  trong bộ dữ liệu hiệu chuẩn thì cần kiểm tra dữ liệu đối chứng về các sai số trong nhận biết mẫu, phân tích đối chứng, sự tính toán, truyền dữ liệu v.v... Tuy nhiên, có thể gặp khó khăn liên quan đến các ngoại lệ với các sai số trong các phép phân tích đối chứng vì bước hiệu chuẩn thường được thực hiện ở giai đoạn sau các phép phân tích đối chứng, mà có thể không thực hiện được các phép phân tích lặp lại vì tính không ổn định của mẫu. Không có biện pháp phù hợp để xử lý các ngoại lệ  $y$ , nhưng nói chung các ngoại lệ cần được loại bỏ nếu chênh lệch giữa các kết quả NIR và kết quả đối chứng trong đánh giá xác nhận chéo vượt quá ba lần RMSECV (xem Điều 7).

Điều quan trọng là việc loại bỏ các ngoại lệ có thể ảnh hưởng đến việc dự đoán các mẫu tương tự sau này. Các ngoại lệ cần được loại bỏ theo mẻ trước khi tạo dựng mô hình hiệu chuẩn mới. Bước loại bỏ ngoại lệ chỉ cần thực hiện một đến hai lần để không làm giảm độ vững chắc của việc hiệu chuẩn và đánh giá quá cao về độ chính xác. Cần chú ý để duy trì sự phân bố tối ưu của bộ hiệu chuẩn khi các ngoại lệ được loại bỏ.

Hình B.2 nêu trường hợp thực tế không có các ngoại lệ. Trong Hình B.4 có ngoại lệ  $y$ .

#### 6.4.4 Ngoại lệ $x$ và $y$ kết hợp

Các mẫu có cả hai ngoại lệ  $x$  và  $y$  (các ngoại lệ có ảnh hưởng) có tác động rất lớn đến phương trình hồi quy và tác động này có thể rất xấu. Các ngoại lệ này có thể ảnh hưởng đến độ dốc của phương trình và làm tăng hoặc giảm đáng kể sai số dự đoán.

Hình B.2 nêu trường hợp thực tế không có các ngoại lệ. Trong Hình B.5 và B.6, có cả ngoại lệ  $x$  và ngoại lệ  $y$ .

### 6.5 Đánh giá xác nhận các mô hình hiệu chuẩn

Khi các phương trình hiệu chuẩn đã được xây dựng, chúng phải được đánh giá xác nhận trên bộ phép thử độc lập, tốt nhất là mẫu được lấy sau khi hiệu chuẩn. Bộ phép thử cần bao trùm tất cả các biến thiên trong bộ mẫu và cần chứa ít nhất là 25 mẫu. Dùng phép đánh giá xác nhận chéo trong quá trình hiệu chuẩn, khi các phần tiếp theo của bộ hiệu chuẩn đã được dành riêng để đánh giá xác nhận, có thể cho ước tính đúng về độ không đảm bảo của phương pháp khi chọn đúng các mẫu hiệu chuẩn.



Tuy nhiên, có nguy cơ tiềm tàng là việc đánh giá xác nhận chéo có thể đánh giá dưới mức về độ vững chắc của hiệu chuẩn và độ không đảm bảo dự đoán vì các mẫu đánh giá xác nhận chéo được lấy trong số mẫu được dùng để hiệu chuẩn.

Các kết quả thu được trong bộ thử độc lập được dựng thành đồ thị, kết quả đối chứng dựa vào NIR và số dư dựa vào kết quả đối chứng, để cho cái nhìn rõ về hiệu năng của hiệu chuẩn. SEP được tính (xem Điều 7) và phần đồ thị còn lại của dữ liệu được hiệu chỉnh về sai số hệ thống trung bình (độ chệch) được xác định đối với các ngoại lệ; nghĩa là các mẫu có số dư vượt quá  $3 \times \text{SEP}$ . Nếu có một ngoại lệ xuất hiện và không thể phân loại được là ngoại lệ  $x$  và phân tích lại mẫu bằng NIR và các phương pháp đối chứng để khẳng định kết quả thì không cần loại bỏ ngoại lệ.

Trong trường hợp này, độ vững chắc của hiệu chuẩn là không đủ và bộ hiệu chuẩn cần được mở rộng. Bước tiếp theo là điều chỉnh cho phù hợp với NIR và dữ liệu đối chứng bằng hồi quy tuyến tính (đối chứng  $= b \times \text{NIR} + a$ ) để hỗ trợ cho việc quan sát. Nếu độ dốc ( $b$ ) khác nhiều so với 1 thì hiệu chuẩn bị lệch. Nói chung, không nên điều chỉnh độ dốc của hiệu chuẩn. Nếu việc xem xét lại vẫn không phát hiện ra các ngoại lệ, đặc biệt là các ngoại lệ có ảnh hưởng, thì tốt nhất là mở rộng bộ hiệu chuẩn để bao gồm nhiều mẫu hơn. Tuy nhiên, nếu điều chỉnh độ dốc thì việc hiệu chỉnh phải được kiểm tra trên bộ thử độc lập mới. Dữ liệu cũng cần được kiểm tra về độ chệch giữa các phương pháp. Giao điểm ( $a$ ) khác nhiều so với 0 cho thấy rằng việc hiệu chuẩn đã bị lệch. Có thể loại bỏ độ chệch bằng cách điều chỉnh số hạng hằng số trong phương trình hiệu chuẩn. Tuy nhiên, nếu độ chính xác của việc hiệu chuẩn đã chỉnh độ chệch vẫn kém nhiều so với mong đợi từ phép đánh giá xác nhận chéo trên bộ hiệu chuẩn, nghĩa là SEP lớn hơn đáng kể so với RMSECV thì bộ hiệu chuẩn cần được mở rộng để bao gồm nhiều mẫu hơn. Trong mọi trường hợp, khi xây dựng phép hiệu chuẩn mới trên bộ hiệu chuẩn mở rộng thì quá trình đánh giá xác nhận cần được lặp lại trên bộ thử độc lập mới. Nếu cần, lặp lại việc mở rộng bộ hiệu chuẩn cho đến khi tất cả các kết quả được chấp nhận thu được trên bộ thử nghiệm độc lập.

## 6.6 Thay đổi về điều kiện đo và thiết bị

Trừ khi tiến hành đánh giá xác nhận bổ sung, việc đánh giá xác nhận cục bộ của phương pháp NIR nêu rõ độ chính xác của phương pháp thường có thể không được xem xét hiệu lực nếu các điều kiện thử nghiệm bị thay đổi.

Ví dụ, việc hiệu chuẩn được xây dựng đối với bộ mẫu cụ thể có thể không có hiệu lực đối với các mẫu nằm ngoài bộ mẫu này, cho dù dải nồng độ chất phân tích không thay đổi. Phép hiệu chuẩn được xây dựng dựa trên phomat từ một loại sữa có thể không cho cùng một độ chính xác trên các sản phẩm phomat được chế biến từ loại sữa khác nếu các thông số của quá trình chế biến và làm chín là khác nhau.

Những thay đổi trong kỹ thuật thể hiện mẫu hoặc các điều kiện đo (ví dụ: nhiệt độ) không bao gồm trong bộ hiệu chuẩn cũng có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích.

Ngoài ra, các phép hiệu chuẩn được xây dựng trên một thiết bị cụ thể không phải lúc nào cũng có thể được truyền trực tiếp sang một thiết bị giống hệt được vận hành theo cùng nguyên tắc. Có thể cần phải thực hiện điều chỉnh độ chệch và độ dốc trong các phương trình hiệu chuẩn. Trong một số trường hợp, có thể cần phải chuẩn hóa hai thiết bị với nhau bằng các quy trình toán học trước khi chuyển sang các phương trình hiệu chuẩn [2]. Các quy trình chuẩn hóa có thể được dùng để truyền các phép hiệu chuẩn giữa các thiết bị có các kiểu dạng khác nhau với điều kiện là các mẫu được đo theo cùng phương thức (sự phản xạ, sự truyền) trong các cốc giống nhau và có chung phần lớn vùng phổ. Bổ sung vài mẫu được quét bằng thiết bị thứ hai vào cơ sở dữ liệu thì có thể góp phần cho việc truyền.

Nếu các điều kiện bị thay đổi thì cần tiến hành đánh giá xác nhận bổ sung.

Cần kiểm tra việc hiệu chuẩn mỗi khi thay đổi hoặc sửa chữa bất kỳ bộ phận chính nào của thiết bị (hệ thống quang, detector).

## 6.7 Phát hiện ngoại lệ

Sử dụng phương pháp NIR thường hạn chế đối với các mẫu trong bộ mẫu được bao trùm bởi bộ hiệu chuẩn phù hợp với các đặc tính của nguyên liệu mẫu và nồng độ chất phân tích. Phương pháp NIR cần có hệ thống phát hiện ngoại lệ để giảm nguy cơ sử dụng không chủ định việc đo phổ NIR trên các mẫu nằm ngoài bộ mẫu. Hệ thống phải có thể phát hiện được các ngoại lệ  $x$  và các mẫu nằm ngoài dải nồng độ. Nguyên tắc của Mahalanobis [7] được áp dụng cho các dữ liệu giảm PCA hoặc "đòn bẩy" [8] có thể được dùng để phát hiện các ngoại lệ  $x$ . Nếu mẫu được phát hiện là ngoại lệ thì mẫu cần được phân tích lại bằng các phương pháp đối chứng để thu được kết quả cuối cùng.

## 7 Thống kê đối với phép đo hiệu năng

### 7.1 Sai số chuẩn của dự đoán (SEP) và độ chệch

Sai số chuẩn của dự đoán (SEP), biểu thị độ chính xác của các kết quả thông dụng đã hiệu chỉnh về chênh lệch trung bình giữa phương pháp thông dụng và phương pháp đối chứng (độ chệch), có thể tính được theo công thức sau:

$$SEP = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum (x_i - y_i - B)^2}$$

Trong đó:

$(x_i - y_i)$  là chênh lệch giữa các kết quả thu được bằng phương pháp thông dụng ( $x_i$ ) và phương pháp đối chứng ( $y_i$ ) trên mẫu  $i$ ;

$B$  là độ chệch tính được theo công thức sau:

$$B = \frac{1}{N} \sum (x_i - y_i) = \bar{x} - \bar{y}$$

$N$  là tổng số lượng mẫu có trong phép thử.

SEP bằng độ lệch chuẩn của số dư dự đoán. Thuật ngữ này biểu thị độ chính xác có thể kỳ vọng với phương trình hiệu chuẩn khi độ chệch là zero. Các ký hiệu khác về thuật ngữ thống kê này có thể có ví dụ trong ISO 8196-2.

Để thu được các số ước tính thực tế về độ chính xác, SEP cần được tính trên các mẫu nằm ngoài bộ hiệu chuẩn và sự phân bố dải nồng độ chất phân tích cần phải đồng nhất.

### 7.2 Sai số căn bậc hai trung bình của dự đoán (RMSEP)

Thay cho việc báo cáo về SEP và độ chệch theo các số hạng riêng rẽ, có thể gộp chúng vào thành sai số căn bậc hai trung bình của dự đoán (RMSEP) như sau:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{N} \sum (x_i - y_i)^2}$$

Mối quan hệ giữa SEP và RMSEP là  $RMSEP^2 \approx SEP^2 + B^2$  (từ Tài liệu tham khảo [2]). Khi chênh lệch giữa phương pháp NIR và phương pháp đối chứng rõ ràng không có tính hệ thống thì SEP có thể ước tính quá cao về khả năng cải thiện độ chính xác có điều chỉnh độ chệch. Trong trường hợp này, RMSEP cho ước tính thực tế hơn về dự đoán khả năng hiệu chuẩn. Khi độ chệch là không đáng kể thì RMSEP hướng về SEP với sự tăng số lượng dữ liệu.

Để thu được các số ước tính thực tế về độ chính xác, RMSEP cần được tính toán trên các mẫu nằm ngoài bộ hiệu chuẩn và sự phân bố dải nồng độ chất phân tích cần đồng nhất.

### 7.3 Sai số căn bậc hai trung bình của đánh giá xác nhận chéo (RMSECV)

Công thức tính giống như đối với RMSEP (xem 7.2). Có sự khác là RMSECV được tính từ đánh giá xác nhận chéo trên bộ hiệu chuẩn và không đánh giá trên bộ thử nghiệm độc lập.

SEP, RPSEP và RMSECV cũng chứa độ không đảm bảo đo của các kết quả đối chứng. Để giảm độ không đảm bảo đo này đến mức có thể được chấp nhận (nhỏ hơn 5 % tương đối) thì độ không chính xác của các kết quả đối chứng cuối cùng cần phải nhỏ hơn một phần ba của SEP.

## 8 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện. Mẫu không bị hư hỏng hoặc không bị thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Tất cả các mẫu phòng thử nghiệm thường được duy trì ở nhiệt độ từ 0 °C đến 4 °C kể từ khi lấy mẫu đến khi phân tích.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

## 9 Cách tiến hành

### 9.1 Chuẩn bị mẫu thử

#### 9.1.1 Phomat

Trước khi phân tích, loại bỏ lớp cùi hoặc lớp vỏ bên ngoài phomat sao cho thu được mẫu thử đại diện của phomat.

Chuẩn bị mẫu với dụng cụ thích hợp (5.2). Trộn nhanh mẫu đã nghiền hoặc đã bào. Nếu mẫu không thể nghiền hoặc xay nhỏ thì trộn kỹ mẫu bằng dao. Chú ý để không làm thất thoát ẩm.

Bảo quản mẫu đã chuẩn bị trong vật chứa kín khí cho đến khi phân tích, nên tiến hành trong ngày phân tích. Nếu chưa thực hiện được ngay thì phải chú ý bảo quản mẫu đúng cách. Nếu được bảo quản lạnh thì phải đảm bảo rằng tất cả ẩm ngưng tụ trên thành trong của vật chứa được trộn đều lại và tạo thành một khối đồng nhất trong mẫu thử.

#### 9.1.2 Sữa bột, whey bột và buttermilk bột

Trộn kỹ mẫu bằng cách quay và đảo chiều hộp chứa nhiều lần (sau khi chuyển hết mẫu phòng thử nghiệm sang một hộp chứa kín khí thích hợp có dung tích đủ rộng để thực hiện thao tác này, nếu cần).

#### 9.1.3 Bơ

Khi không cần thiết thì không phải trộn mẫu. Nếu phải trộn thì nhiệt độ trộn không được vượt quá 25 °C.

Bảo quản mẫu đã chuẩn bị trong vật chứa kín khí cho đến khi phân tích, nên tiến hành trong ngày phân tích. Nếu chưa thực hiện được ngay quy phải chú ý bảo quản mẫu đúng cách. Nếu được bảo quản lạnh thì phải đảm bảo rằng tất cả ẩm ngưng tụ trên thành trong của vật chứa được trộn đều và tạo thành một khối đồng nhất trong mẫu thử.

Việc giảm khối lượng mẫu thử đã chuẩn bị để thu được mẫu phân tích cần được thực hiện theo các nguyên tắc giảm sai số do lấy mẫu đến mức nhỏ nhất. Dùng các kỹ thuật lấy mẫu gia tăng (ví dụ: dùng máng chia mẫu đối với các sản phẩm dạng bột) có thể tốt cho các mẫu không đồng đều.

## 9.2 Phép đo

Mẫu thử đã chuẩn bị cần đạt đến nhiệt độ trong dải hiệu chuẩn, ví dụ: từ 20 °C đến 30 °C đối với phomat và sữa bột và từ 8 °C đến 12 °C đối với bơ. Chuyển mẫu con sang cốc đựng mẫu mà không nén mẫu, bề mặt của mẫu phải được dàn phẳng. Đo mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị.

Số lần quét hoặc dự đoán mẫu con trung bình hoặc thời gian dừng của mỗi bước sóng cần đủ rộng để giảm nhiễu của phép đo đến mức đáng kể. Sau đó áp dụng mô hình hiệu chuẩn có hiệu lực đối với kiểu loại mẫu cần đo. Nếu sử dụng các cốc mẫu dùng nhiều lần có các cửa thì các cửa cần được làm sạch giữa các lần đo [có thể dùng bàn chải hoặc máy làm sạch chân không để loại bỏ các hạt hoặc dùng khăn vải thấm dung môi thích hợp (4.1) để loại bỏ các hỗn hợp dính ướt].

## 9.3 Đánh giá kết quả

Các kết quả thu được trên các mẫu thử được phát hiện như các ngoại lệ quang phổ hoặc nồng độ có thể không đáng tin cậy.

## 10 Kiểm tra độ ổn định của thiết bị

### 10.1 Mẫu kiểm soát

Cần đo ít nhất một mẫu kiểm soát trước và sau các dãy phân tích mẫu liên tục để kiểm tra độ ổn định của phần cứng thiết bị và để phát hiện mọi sự cố. Không cần thiết phải biết nồng độ chính xác của chất phân tích trong mẫu kiểm soát. Nguyên liệu mẫu càng giống với mẫu phân tích càng tốt và các thông số đo được cần giống hoặc ít nhất là về mặt sinh hóa càng giống chất phân tích mẫu càng tốt.

Phomat, sữa bột và bơ có thể được sử dụng làm nguyên liệu kiểm soát sau các khoảng thời gian ngắn. Mẫu được chuẩn bị theo 9.1 và được bảo quản lạnh làm các dãy mẫu con đựng trong vật chứa đậy kín. Các mẫu này có thể bền được trong một tuần. Bơ và đặc biệt là sữa bột thường bền hơn phomat. Độ ổn định cần được kiểm tra trong các trường hợp thực tế. Sự luân phiên giữa các mẫu kiểm soát cần phải chồng nhau để đảm bảo kiểm soát liên tục.

Sự biến thiên ghi lại được từ ngày này sang ngày khác cần được dựng thành biểu đồ kiểm soát và được nghiên cứu cho từng mô hình và khuynh hướng trực tiếp.

### 10.2 Chẩn đoán về thiết bị

Đối với các máy quang phổ quét, độ chính xác của bước sóng và độ chụm cần được kiểm tra ít nhất một tuần một lần hoặc nhiều hơn nếu có khuyến cáo của nhà sản xuất và các kết quả cần được so sánh với các qui định và các yêu cầu (xem 5.1). Nhiễu của phép đo quang cần được kiểm tra hàng ngày để cảnh báo lỗi về đèn, các vấn đề về cơ học của thiết bị, rò rỉ ánh sáng trong khu vực lấy mẫu,

quá nhiệt và thay đổi độ ẩm v.v... Các phép thử này có thể là một phần của hệ thống chẩn đoán tự thực hiện gắn với thiết bị.

## 11 Kiểm tra hiệu năng của việc hiệu chuẩn

Các phương pháp NIR cần được đánh giá xác nhận liên tục dựa theo các phương pháp đối chứng để đảm bảo hiệu quả hiệu chuẩn ổn định tối ưu và sự phù hợp của độ chính xác. Tần suất kiểm tra phương pháp NIR cần đủ để đảm bảo rằng phương pháp được vận hành dưới sự kiểm soát ổn định về độ lệch ngẫu nhiên và độ lệch hệ thống so với phương pháp đối chứng. Tần suất kiểm tra này không kể những điều khác (*inter alia*) phụ thuộc vào số lượng mẫu được phân tích trong ngày và tốc độ thay đổi trong bộ mẫu. Thường điển hình là 1 % đến 5 % các mẫu cần đo được kiểm tra bằng các phương pháp đối chứng.

Việc đánh giá xác nhận cần được thực hiện trên các mẫu được chọn ngẫu nhiên trong số mẫu cần phân tích. Có thể cần phải sử dụng đến cách lấy mẫu đảm bảo được sự phân bố mẫu cân bằng trên khắp dải hiệu chuẩn, ví dụ: sự phân đoạn dải nồng độ và lựa chọn ngẫu nhiên các mẫu thử trong mỗi phân đoạn.

Các kết quả cần được đánh giá bằng biểu đồ kiểm soát, dựng số lượng mẫu trên trục hoành và sự chênh lệch về kết quả thu được bằng phương pháp đối chứng và phương pháp NIR trên trục tung;  $\pm 2 \times \text{SEP}$  (độ tin cậy 95 %) và  $\pm 3 \times \text{SEP}$  (độ tin cậy 99,9 %), có thể được dùng làm ranh giới cảnh báo và ranh giới hoạt động khi SEP thu được trên bộ thử nghiệm các mẫu hiệu chuẩn được chọn độc lập.

Nếu phòng thử nghiệm thực hiện hiệu chuẩn và đối chứng quy chỉ cần 1 trong 20 điểm cần nằm ngoài ranh giới cảnh báo và 1 trong 1000 điểm nằm ngoài ranh giới hoạt động.

Biểu đồ kiểm soát cần được kiểm tra về độ lệch hệ thống so với zero, mô hình hệ thống và sự biến thiên quá mức của các kết quả. Các nguyên tắc chung áp dụng cho các biểu đồ kiểm soát Shewhart có thể được dùng để đánh giá<sup>[34]</sup>. Tuy nhiên, có quá nhiều nguyên tắc được áp dụng đồng thời có thể dẫn đến quá nhiều báo động giả.

Các nguyên tắc sau đây được dùng kết hợp để tăng khả năng phát hiện các vấn đề:

- một điểm nằm ngoài ranh giới hoạt động;
- hai trong ba điểm trong một hàng nằm ngoài ranh giới cảnh báo
- chín điểm trong một hàng trên cùng một phía của đường zero.

Biểu đồ kiểm soát bổ sung về các đặc tính khác của vận hành kiểm soát (ví dụ: chênh lệch trung bình giữa các kết quả của NIR và phương pháp đối chứng; xem ISO 9622) và các nguyên tắc bổ sung có thể áp dụng cho các quyết định tốt hơn.

Trong đánh giá các kết quả, cần lưu ý rằng SEP và các chênh lệch đo được giữa NIR với các kết quả đối chứng cũng bao gồm cả sự không chính xác của các kết quả đối chứng. Sự không chính xác này có thể được giảm đến mức có thể bỏ qua nếu sự không chính xác của các kết quả đối chứng được giảm đến dưới một phần ba SEP<sup>[9]</sup>.

Để giảm nguy cơ cảnh báo giả, các mẫu kiểm soát cần được phân tích độc lập (theo các dãy khác nhau) bằng cả phương pháp đo phổ NIR và phương pháp đối chứng để tránh ảnh hưởng của sai lệch hệ thống ngày này qua ngày khác, ví dụ: các phép phân tích đối chứng.

Nếu các ranh giới cảnh báo thường bị vượt quá và biểu đồ kiểm soát chỉ cho thấy các dao động ngẫu nhiên (như tương phản với xu hướng hoặc chệch mang tính hệ thống) thì các ranh giới kiểm soát có thể đã phụ thuộc quá nhiều vào SEP. Sự cố gắng để ép các kết quả vào phạm vi ranh giới bằng cách điều chỉnh thường xuyên việc hiệu chỉnh sẽ không cải thiện được tình huống thực tế. Thay vào đó, cần đánh giá lại SEP sử dụng các kết quả sau cùng.

Nếu các phương trình hiệu chuẩn sau giai đoạn ổn định bắt đầu vượt tầm kiểm soát thì cần nâng cấp hiệu chuẩn. Trước mỗi lần thực hiện hiệu chuẩn, cần đánh giá các thay đổi có thể xảy ra do sự thay đổi các phép phân tích đối chứng, các thay đổi không chủ định về các điều kiện đo (ví dụ: do người vận hành mới), lệch về thiết bị hoặc có sự cố v.v... Trong một số trường hợp, chỉ cần điều chỉnh đơn giản đối với hằng số trong phương trình hiệu chuẩn (ví dụ được nêu trong Hình B.7). Trong các trường hợp khác, có thể cần phải thực hiện lại một quy trình hiệu chuẩn hoàn thiện, khi một bộ hiệu chuẩn hoặc một phần của bộ hiệu chuẩn cơ bản được mở rộng để bao trùm các mẫu từ đánh giá xác nhận và các mẫu bổ sung được chọn cho mục đích này (xem ví dụ trong Hình B.8).

Coi như các phép phân tích đối chứng nằm trong phép kiểm soát thống kê và các điều kiện đo và tính năng của thiết bị không đổi thì các độ chệch có ý nghĩa hoặc các giá trị SEP tăng có thể do những thay đổi về các đặc tính vật lý, hóa học hoặc sinh học của các mẫu thử so với bộ hiệu chuẩn cơ bản. Các thay đổi này trong thực tế có thể do, ví dụ, thay đổi các thông số trong chế biến phomat.

## 12 Độ chính xác và độ chụm

### 12.1 Độ lặp lại

Độ lặp lại, nghĩa là chênh lệch giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, tiến hành trên nguyên liệu giống hệt nhau, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp, tùy thuộc vào nguyên liệu mẫu, chất phân tích, mẫu và các dải biến thiên của chất phân tích, phương pháp thể hiện mẫu, kiểu loại thiết bị và phương pháp hiệu chuẩn được sử dụng. Độ lặp lại cần được xác định cho từng trường hợp.

## 12.2 Độ tái lập trong phòng thử nghiệm

Độ tái lập trong phòng nghiệm, nghĩa là chênh lệch giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập riêng rẽ, thu được tiến hành trên nguyên liệu giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do những người khác nhau thực hiện, tại các thời điểm khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp, tùy thuộc vào nguyên liệu mẫu, chất phân tích, mẫu và các dải biến thiên của chất phân tích, phương pháp thể hiện mẫu, kiểu loại thiết bị và phương pháp hiệu chuẩn được sử dụng. Độ tái lập cần được xác định cho từng trường hợp.

## 12.3 Độ chính xác

Độ chính xác bao gồm độ không đảm bảo từ độ lệch mang tính hệ thống so với giá trị đúng trên mẫu riêng rẽ (độ chính xác) và độ không đảm bảo từ biến thiên ngẫu nhiên (độ chụm), phụ thuộc vào nguyên liệu mẫu, chất phân tích, mẫu và các dải biến thiên của chất phân tích, phương pháp thể hiện mẫu, kiểu loại thiết bị và phương pháp hiệu chuẩn được sử dụng. Độ chính xác cần được xác định cho từng trường hợp. Các giá trị SEP và RMSEP được nêu trong Bảng A.1. Các giá trị SEP và RMSEP cũng bao gồm độ không đảm bảo của các kết quả đối chứng, chúng có thể khác nhau giữa các trường hợp.

## 13 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc tùy chọn;
- d) mọi chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được;
- f) giá trị SEP thu được và độ chệch (nếu có ý nghĩa thống kê), ước tính được từ phép thử hiệu năng trên ít nhất 25 mẫu thử (xem Điều 11).



## Phụ lục A

(Tham khảo)

## Các ví dụ về giá trị SEP và RMSEP

Các giá trị SEP và RMSEP sau đây đã được báo cáo trong các tài liệu. Các giá trị SEP và RMSEP ghi lại được cũng bao gồm độ không đảm bảo của các kết quả đối chứng, chúng có thể khác nhau giữa các trường hợp.

Bảng A.1 – Giá trị SEP và RMSEP

Nguyên liệu mẫu	Chất phân tích	Dài nồng độ %	RMSEP %	SEP %	Kỹ thuật NIR	Tài liệu tham khảo
Phomat chế biến, Gouda, Edam	Độ ẩm	từ 40 đến 51		0,24	Phản xạ Mẫu nghiền	10
	Chất béo	từ 21 đến 31		0,27		
Phomat chế biến	Độ ẩm	từ 48 đến 51		0,21	Phản xạ	10
	Chất béo	từ 21 đến 23		0,23		
	Protein	từ 20 đến 24		0,35		
Cheddar	Độ ẩm	từ 35 đến 40	0,34		Phản xạ Mẫu nghiền	11
	Chất béo	từ 31 đến 35	0,33			
Tetilla, Arzua, Edam	Chất khô tổng số	từ 45 đến 62	0,61		Truyền Mẫu không nghiền	13
	Chất béo	từ 18 đến 32	0,47			
	Protein	từ 16 đến 30	0,50			
Danbo	Độ ẩm	từ 40 đến 52	0,30		Truyền Mẫu không nghiền	13
	Chất béo	từ 22 đến 28	0,28			
	Protein	từ 22 đến 27	0,26			
Danbo	Chất khô tổng số	từ 46 đến 62	0,58		Truyền Mẫu không nghiền	14
	Chất béo	từ 14 đến 36	0,52			
	Protein	từ 22 đến 31	0,38			
Edam	Chất khô tổng số	từ 50 đến 61	0,20		Truyền Mẫu nghiền	15
Gouda	Chất khô tổng số	từ 40 đến 43	0,12		Truyền	15
Brie	Chất khô tổng số	từ 41 đến 55	0,33		Truyền	15
Colby	Chất khô tổng số	từ 38 đến 41	0,23 đến 0,27		Truyền	15
Cheddar	Chất khô tổng số	từ 37 đến 40	0,31 đến 0,35		Truyền	15
Danbo	Chất khô tổng số	từ 50 đến 63	0,20		Truyền Mẫu không nghiền	16
	Chất béo	từ 23 đến 29	0,19			
Danbo	Chất khô tổng số	từ 47 đến 52	0,16		Truyền Mẫu không nghiền	17
	Chất khô tổng số	từ 47 đến 63	0,29			
	Chất béo	từ 16 đến 28	0,17			

Bảng A.1 (kết thúc)

Nguyên liệu mẫu	Chất phân tích	Dải nồng độ %	RMSEP %	SEP %	Kỹ thuật NIR	Tài liệu tham khảo
Sữa bột gầy	Độ ẩm	từ 3,3 đến 4,7		0,08	Phản xạ	10
	Chất béo	từ 0,5 đến 1,3		0,09		
	Protein	từ 34 đến 37		0,20		
	Lactose	từ 48 đến 50		0,44		
Buttermilk bột	Độ ẩm	từ 2,7 đến 6,3		0,10	Phản xạ	10
	Chất béo	từ 5,3 đến 11		0,13		
	Protein	từ 29 đến 35		0,21		
	Lactose	từ 37 đến 47		0,37		
Sữa bột gầy	Độ ẩm	từ 3,2 đến 6,1		0,08 <sup>a</sup>	Phản xạ	18
	Chất béo	từ 0,7 đến 2,5		0,07 <sup>a</sup>		
	Protein	từ 35 đến 38		0,18 <sup>a</sup>		
Sữa bột nguyên chất	Độ ẩm	từ 2,7 đến 4,5		0,09 <sup>a</sup>	Phản xạ	18
	Chất béo	từ 24 đến 27		0,19 <sup>a</sup>		
	Protein	từ 25 đến 28		0,19 <sup>a</sup>		
Sữa bột gầy	Độ ẩm	từ 2,9 đến 9,7		0,27	Phản xạ	19
	Chất béo	từ 0,5 đến 2,1		0,10		
	Protein	từ 34 đến 40		0,44		
	Lactose	từ 53 đến 58		0,59		
Whey bột	Độ ẩm	từ 2,7 đến 5,7		0,37	Phản xạ	20
	Chất béo	từ 0,2 đến 7,2		0,52		
	Protein	từ 9,5 đến 42		1,3		
	Lactose	từ 7,9 đến 71		2,8		
Bơ	Độ ẩm	từ 14 đến 16	0,26		Phản xạ	21
	Chất khô không béo	từ 1,3 đến 2,6	0,071			
	Chất béo	từ 81 đến 84	0,38			

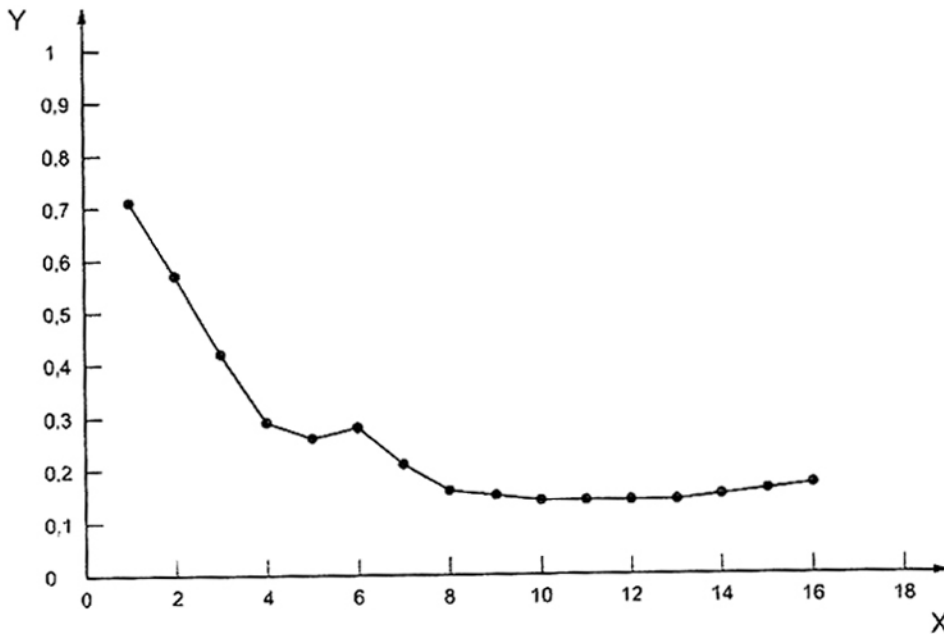
<sup>a</sup> Sai số chuẩn từ phép hiệu chuẩn mà không có đánh giá xác nhận chéo.

**Phụ lục B**  
(Tham khảo)

**Các ví dụ về số liệu**

Các phép hiệu chuẩn quét toàn phần (đường truyền từ 900 nm đến 1100 nm) đã được thực hiện đối với phép xác định chất béo (%) trong phomat nửa cứng chứa khoảng 30 % chất béo trong chất khô tổng số. Những phép hiệu chuẩn này sử dụng 110 mẫu và sáu phân đoạn đánh giá chéo. Phổ được xử lý bằng MSC trước khi hiệu chuẩn. Các phép hiệu chuẩn này đã được thử nghiệm trên bộ thử nghiệm độc lập để thu được biểu đồ nêu trong Hình B.1.

Số lượng tối ưu của hệ số PLS là  $10 \pm 1$ .



**CHÚ DẪN:**

X là số lượng hệ số PLS

Y là RMSEP

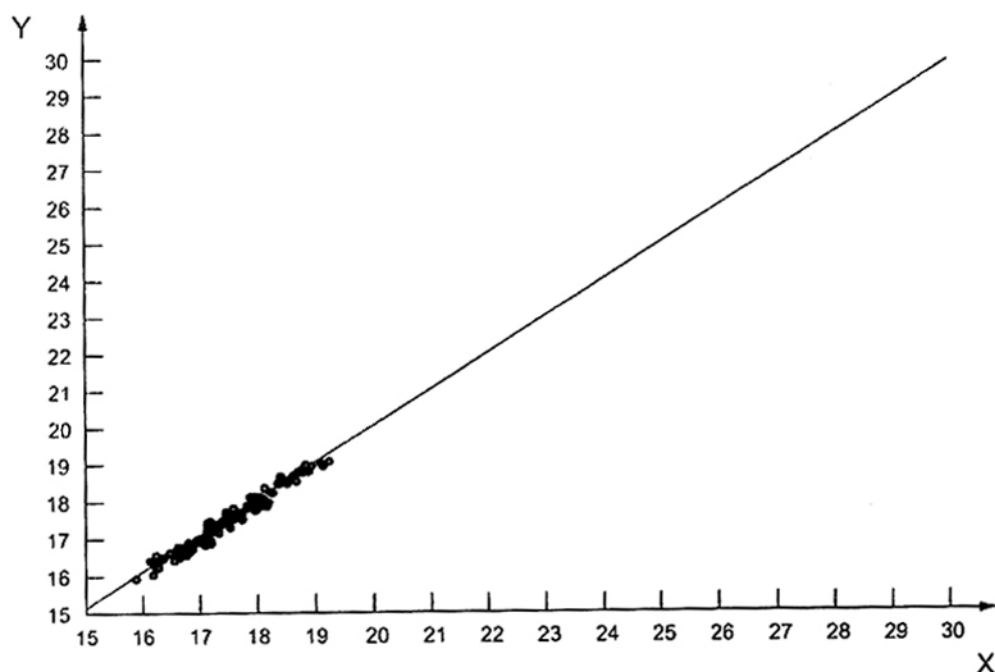
**Hình B.1 – Ví dụ trong thực tế cho thấy đồ thị của RMSEP  
là hàm số của số lượng hệ số PLS**

## TCVN 9663:2013

Phương trình hiệu chuẩn quét toàn phần (đường truyền từ 900 nm đến 1100 nm) đã được thực hiện đã được thực hiện đối với phép xác định chất béo (%) trong phomat nửa cứng chứa khoảng 30 % chất béo trong chất khô tổng số. Hình B.2 cho thấy các kết quả đánh giá xác nhận chéo (6 phân đoạn, 110 mẫu) thu được sau khi xử lý phổ bằng MSC.

Các kết quả thu được trên bộ thử nghiệm độc lập (320 mẫu) sử dụng phương trình hiệu chuẩn đã xây dựng là:

SEP 0,14; RMSEP 0,14; độ dốc 1,00.



### CHÚ DẪN:

X là giá trị dự đoán

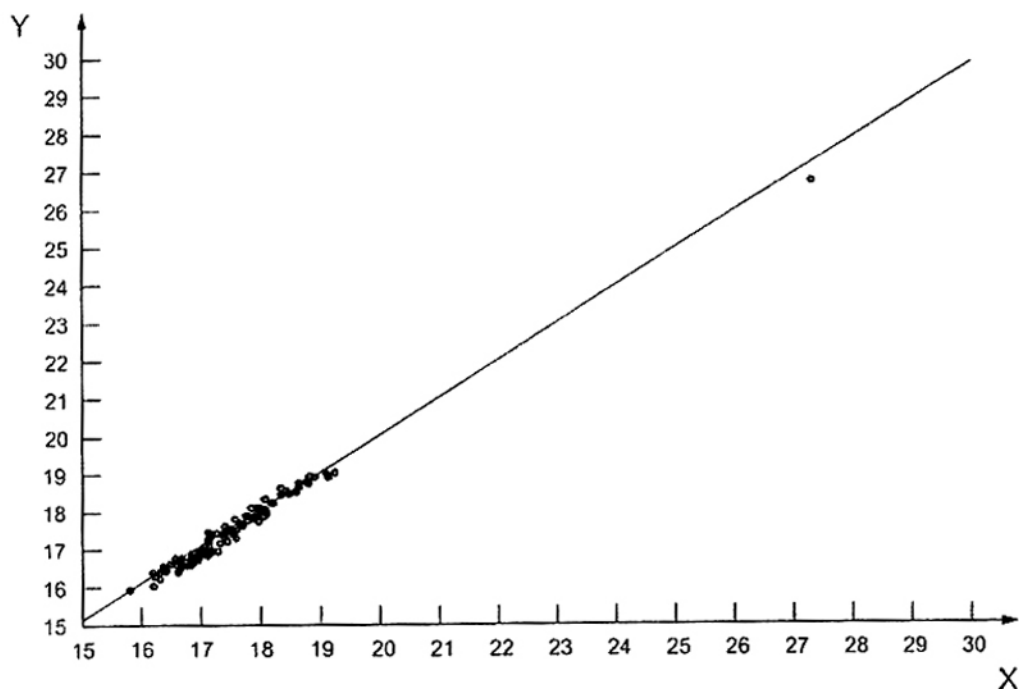
Y là giá trị đối chứng

Hình B.2 – Không có trường hợp ngoại lệ

Hình B.3 thu được với các điều kiện hiệu chuẩn nêu trong Hình B.2. Ngoại lệ x là phomat chứa khoảng 45 % chất béo trong chất khô tổng số.

Các kết quả thu được trên bộ thử nghiệm độc lập (320 mẫu) sử dụng phương trình hiệu chuẩn là:

SEP 0,16; RMSEP 0,16, độ dốc 1,03.



**CHÚ DẪN:**

X là giá trị dự đoán

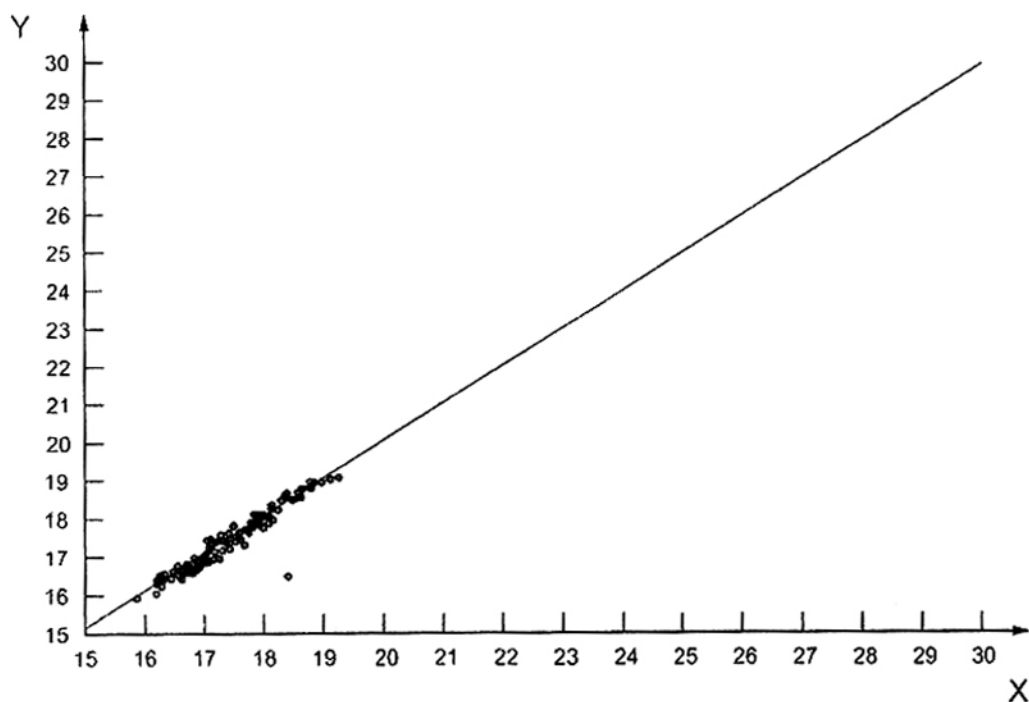
Y là giá trị đối chứng

**Hình B.3 – Trường hợp ngoại lệ x**

Hình B.4 thu được với các điều kiện hiệu chuẩn nêu trong Hình B.2. Ngoại lệ y là phomat chứa khoảng 2,0 % đơn vị sai số trong kết quả đối chứng.

Các kết quả thu được trên bộ thử nghiệm độc lập (320 mẫu) sử dụng phương trình hiệu chuẩn là:

SEP 0,16; RMSEP 0,16, độ dốc 1,03.



**CHÚ DẪN:**

X là giá trị dự đoán

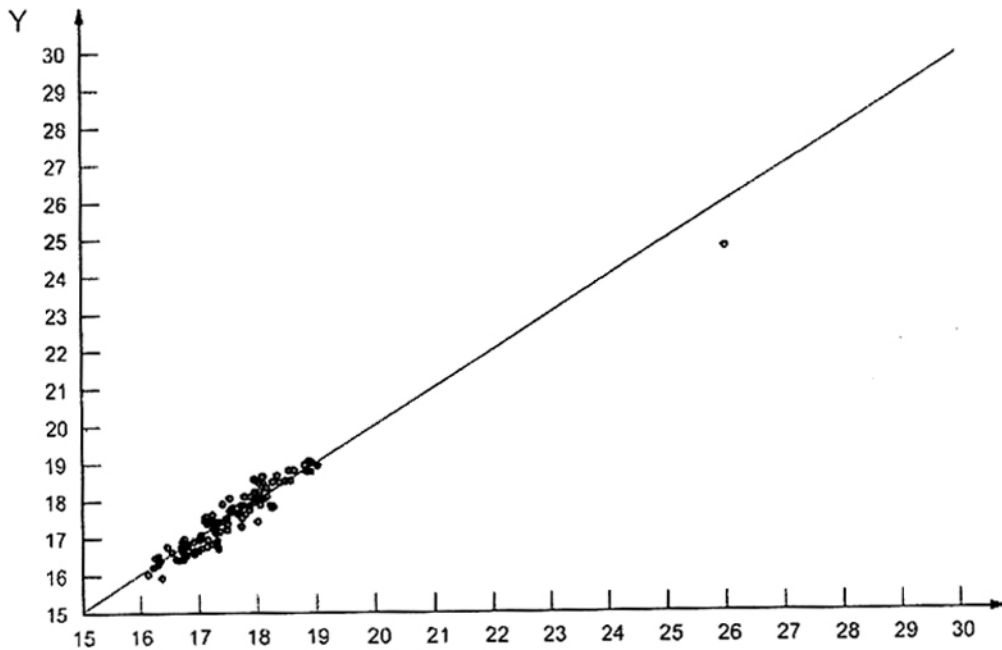
Y là giá trị đối chứng

**Hình B.4 – Trường hợp ngoại lệ y**

Hình B.5 thu được với các điều kiện hiệu chuẩn nêu trong Hình B.2. Mẫu ngoại lệ được nêu trong Hình B.3 (phomat chứa khoảng 45 % chất béo trong chất khô tổng số) chỉ rõ 2,0 % đơn vị sai số trong kết quả đối chứng. Các số dư đã tăng đáng kể và hơi nghiêng nhóm chính để phù hợp với nhóm này và đồng thời quan sát được ngoại lệ.

Các kết quả thu được trên bộ thử nghiệm độc lập (320 mẫu) sử dụng phương trình hiệu chuẩn là:

SEP 0,28; RMSEP 0,29, độ dốc 1,12.



#### CHÚ DẪN:

X là giá trị dự đoán

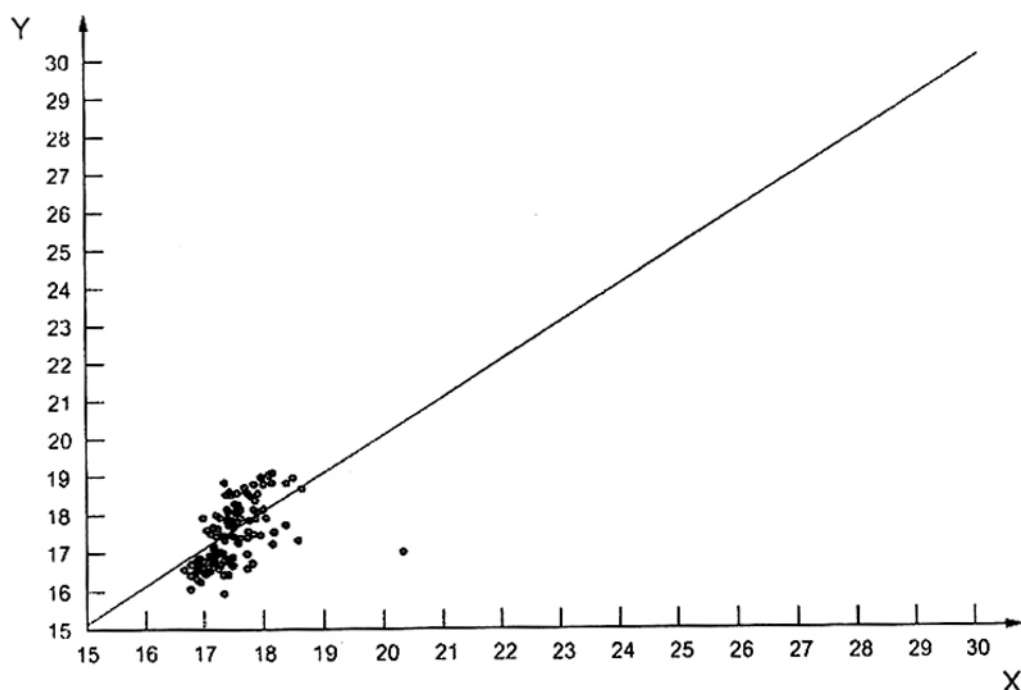
Y là giá trị đối chứng

Hình B.5 – Trường hợp ngoại lệ x và y kết hợp

Hình B.6 thu được với các điều kiện hiệu chuẩn nêu trong Hình B.2. Mẫu ngoại lệ được nêu trong Hình B.3 (phomat chứa khoảng 45 % chất béo trong chất khô tổng số) chỉ rõ kết quả bị sai (kết quả về phomat chứa khoảng 30 % chất béo trong chất khô tổng số). Các số dư tăng đột ngột và hơi nghiêng nhóm chính để phù hợp với nhóm này và đồng thời quan sát được ngoại lệ.

Các kết quả thu được trên bộ thử nghiệm độc lập (320 mẫu) sử dụng phương trình hiệu chuẩn là:

SEP 0,62; RMSEP 0,64, độ dốc 1,61.



#### CHÚ DẪN:

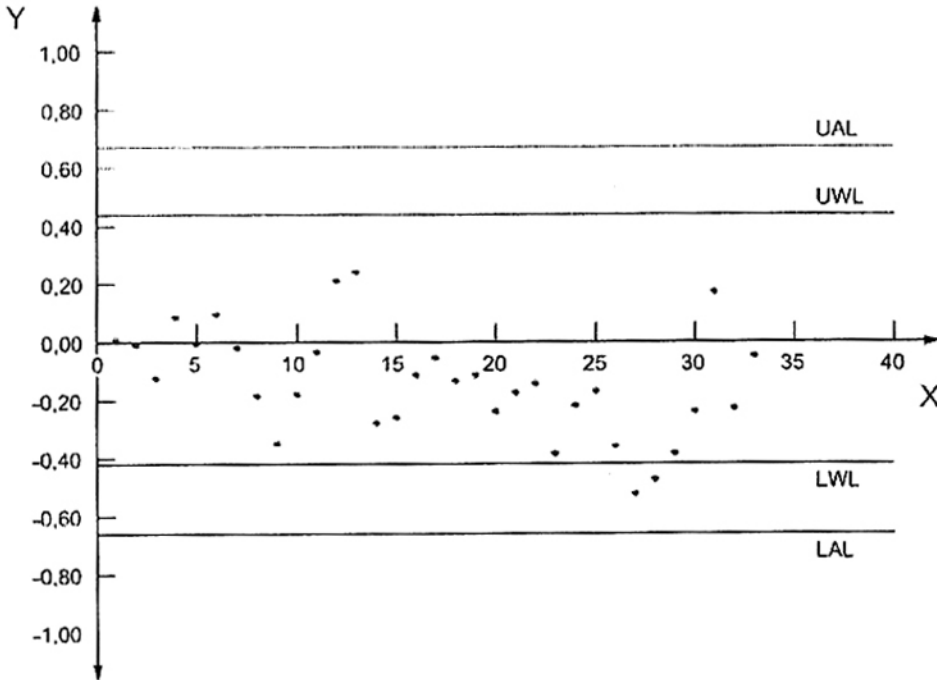
X là giá trị dự đoán

Y là giá trị đối chứng

Hình B.6 – Trường hợp ngoại lệ x và y kết hợp khác



Trong Hình B.7 không có các điểm nằm ngoài ranh giới hoạt động trên (UAL) hoặc ranh giới hoạt động dưới (LAL). Tuy nhiên, có 9 điểm trong một hàng (ví dụ: 14 đến 22) về cùng phía của đường zero. Điều này cho thấy có vấn đề về độ chệch. Có hai điểm (27 và 28) trong ba điểm nằm ngoài ranh giới cảnh báo dưới (LWL) nhưng không có điểm nào nằm ngoài ranh giới cảnh báo trên (UWL). Điều này cũng cho thấy có vấn đề về độ chệch. Ở đây không quan sát thấy có sự tăng về biến thiên ngẫu nhiên. Độ mở rộng là nhỏ hơn  $4 \times \text{SEP}$ . Nói tóm lại, trong hiệu chuẩn cần có sự điều chỉnh về độ chệch.



**CHÚ DẪN:**

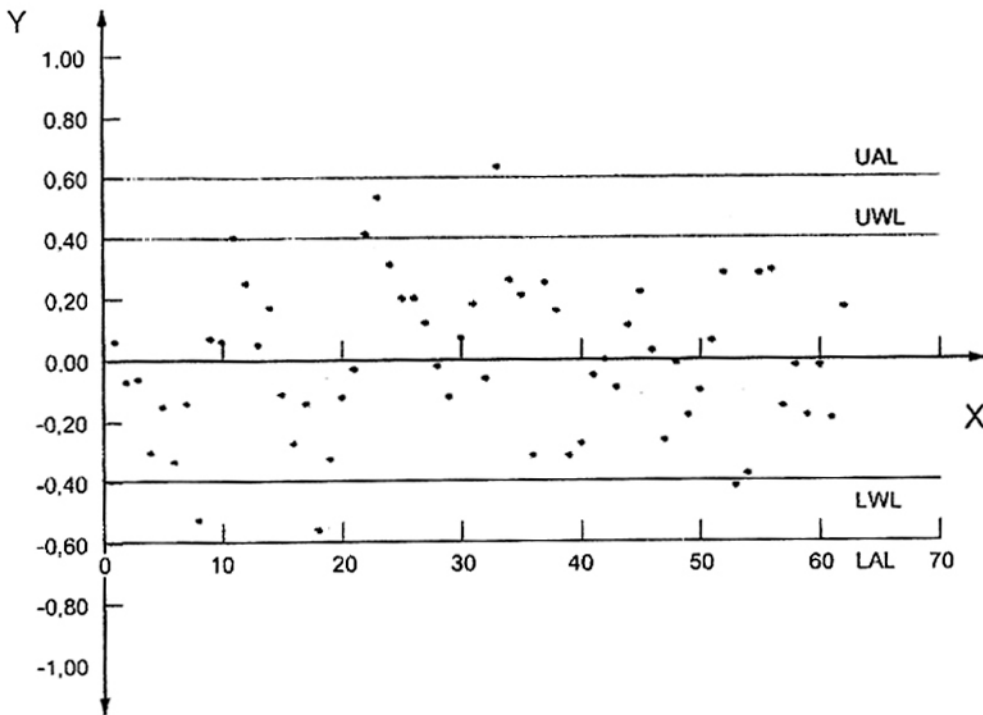
X số lần vận hành

Y kết quả phép thử chuẩn trừ đi kết quả thử bằng NIR

**Hình B.7 – Biểu đồ kiểm soát để xác định phần trăm chất béo trong phomat  
(trong dải từ 28 % đến 38 %)**

Quan sát 34 điểm đầu tiên trong Hình B.8, có một điểm nằm ngoài ranh giới hoạt động (UAL). Điều này cho thấy có vấn đề nghiêm trọng. Có hai điểm (22 và 23) trong ba điểm nằm ngoài ranh giới cảnh báo trên (UWL). Có hai điểm riêng rẽ cũng nằm ngoài ranh giới cảnh báo dưới (LWL). Khoảng mở rộng là đồng đều xung quanh đường zero (nguyên tắc chín điểm) nhưng lại có 5 trong số 34 điểm nằm ngoài giới hạn tin cậy 95 % (UWL, LWL) và một trong số 34 điểm nằm ngoài giới hạn tin cậy 99,9 % (UAL, LAL). Điều này là nhiều hơn kỳ vọng.

Một lý do nữa về hình vẽ này có thể là giá trị SEP phía sau việc tính toán các ranh giới là quá lạc quan. Điều này có nghĩa là các ranh giới cần được mở rộng hơn. Một lý do khác có thể là các mẫu thực tế ở một mức độ nào đó khác với mẫu hiệu chuẩn. Để kiểm nghiệm khả năng này, bộ hiệu chuẩn cần được mở rộng để bao gồm các mẫu kiểm soát và xây dựng phép hiệu chuẩn mới. Hiệu quả của phép hiệu chuẩn này đã tốt hơn, như được chỉ ra bởi các mẫu kiểm soát từ số 35 đến 62.



#### CHÚ DẪN:

X số lần vận hành

Y kết quả phép thử chuẩn trừ đi kết quả thử bằng NIR

CHÚ THÍCH: Việc hiệu chuẩn lại đã được thực hiện tại điểm 35.

**Hình B.8 – Biểu đồ kiểm soát để xác định phần trăm chất khô tổng số trong phomat  
(trong dải từ 44 % đến 57 %)**

### Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] MARTENS, H. and NAES, T. *Multivariate calibration*. John Wiley & Sons, Chichester, 1989
- [2] NAES, T., ISAKSSON, T., FEARN, T. and DAVIES, T. *A user-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR Publications, Chichester, 2002
- [3] SØRENSEN, L.K. and SNOR, L.K. Comparison of near infrared measuring techniques for cheese analyses. In *Near Infrared Spectroscopy. Proceedings of the 9th International Conference* (Davies, A.M.C. and Giangiacomo, R. eds.). NIR Publications: Chichester, 2000, pp. 823-827
- [4] GELADI, P., MACDOUGALL, D., MARTENS, H. Linearization and scatter-correction for near-infrared reflectance spectra of meat. *Appl. Spectrosc.*, **39**, 1985, pp. 491-500
- [5] BARNES, R.J., DHANOA, M.S. and LISTER, S.J. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.*, **43**, 1989, pp. 772-777
- [6] STONE, M. Cross-validated choice and assessment of statistical prediction, *J. Roy. Statist. Soc. B*, **39**, 1974, pp. 111-113
- [7] MARK, H.L. and TUNNELL, D. Qualitative near-infrared reflectance analysis using Mahalanobis distances. *Anal. Chem.*, **57**, 1985, pp. 1449-1456
- [8] COOK, R.D. and WWEISBERG, S. *Residuals and influence in regression*. Chapman and Hall, London, 1982
- [9] SØRENSEN, L.K. Use of routine analytical methods for controlling compliance of milk and milk products with compositional requirements. *IDF Bulletin*, 2004, p. 390
- [10] FRANKHUIZEN, R. and VAN DER VEEN, N.G. Determination of major and minor constituents in milk powders and cheese by near infra-red reflectance spectroscopy. *Neth. Milk Dairy J.*, **39**, 1985, pp. 191-207
- [11] PIERCE, M.M. and WEHLING, R.L. Comparison of sample handling and data treatment methods for determining moisture and fat in Cheddar cheese by near-infrared spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1994, pp. 2830-2835
- [12] RODRIGUEZ-OTERO, J.L., HERMIDA, M. and CEPEDA, A. Determination of fat, protein, and total solids in cheese by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. AOAC International*, **78**, 1995, pp. 802-806

- [13] SØRENSEN, L.K. and JEPSEN, R. Comparison of near infrared spectroscopic techniques for determination of semi-hard cheese constituents. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, **53**, 1998, pp. 263-267
- [14] WITTRUP, C. and NØRGAARD, L. Rapid near infrared spectroscopic screening of chemical parameters in semi-hard cheese using chemometrics. *J. Dairy Sci.*, **81**, 1998, pp. 1803-1809
- [15] MCKENNA, D. Measuring moisture in cheese by near infrared absorption spectroscopy. *J. AOAC International*, **84**, 2001, pp. 623-628
- [16] SØRENSEN, L.K. Accuracy of near infrared spectroscopy in relation to precision of calibration data. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, **56**, 2001, pp. 190-193
- [17] SØRENSEN, L.K. True accuracy of near infrared spectroscopy and its dependence on precision of reference data. *J. Near Infrared Spectroscopy*, **10**, 2002, pp. 15-25
- [18] DE VILDER, J., BOSSUYT, R. Practical experiences with an InfraAlyzer 400 in determining the water protein and fat content of milk powder. *Milchwissenschaft*, **38**, 1983, pp. 65-69.
- [19] BAER, R.J., FRANK, JF. And LOEWENSTEIN, M. Compositional analysis of nonfat dry mil by using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 1983, pp. 858-863.
- [20] BAER, R.J., FRANK, JF. And LOEWENSTEIN, M. and BIRTH, G.S. Compositional analysis of whey powders using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. *J. Food Sci.*, **48**, 1983, pp. 959-961
- [21] HERMIDA, M., GONZALEZ, J.M., SANCHEZ, M. and RODRIGUEZ-OTERO, J.I. Moisture, solids-non-fat and fat analysis in butter by near infrared spectroscopy. *Int. Dairy J.*, **11**, 2001, pp. 93-98.
- [22] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu*
- [23] TCVN 8181 (ISO 1735), *Phomat và sản phẩm phomat chế biến – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)*
- [24] TCVN 7084 (ISO 1736), *Sữa bột và sản phẩm sữa bột – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)*
- [25] TCVN 8148 (ISO 1738), *Bơ – Xác định hàm lượng muối*
- [26] TCVN 8151-1 (ISO 3727-1), *Bơ – Xác định độ ẩm, hàm lượng chất khô không béo và hàm lượng chất béo – Phần 1: Xác định độ ẩm (Phương pháp chuẩn)*
- [27] TCVN 8151-2 (ISO 3727-2), *Bơ – Xác định độ ẩm, hàm lượng chất khô không béo và hàm lượng chất béo – Phần 2: Xác định hàm lượng chất khô không béo (Phương pháp chuẩn)*

- [28] TCVN 8151-3 (ISO 3727-3), *Bơ – Xác định độ ẩm, hàm lượng chất khô không béo và hàm lượng chất béo – Phần 3: Tính hàm lượng chất béo*
- [29] TCVN 8174 (ISO 5534), *Phomat và phomat chế biến – Xác định hàm lượng chất khô tổng số (Phương pháp chuẩn)*
- [30] TCVN 7729 (ISO 5537), *Sữa bột – Xác định độ ẩm (Phương pháp chuẩn)*
- [31] TCVN 9051-1 (ISO 5765-1), *Sữa bột, hỗn hợp kem lạnh dạng bột và phomat chế biến – Xác định hàm lượng lactoza – Phần 1: Phương pháp enzym sử dụng nhóm chức glucoza của lactoza*
- [32] TCVN 9051-2 (ISO 5765-2), *Sữa bột, hỗn hợp kem lạnh dạng bột và phomat chế biến – Xác định hàm lượng lactoza – Phần 2: Phương pháp enzym sử dụng nhóm chức galactoza của lactoza*
- [33] ISO 8196-2, *Milk – Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis – Part 2: Calibration and quality control in the dairy laboratory*
- [34] ISO 8258, *Shewhart control charts*
- [35] TCVN 8099-1 (ISO 8968-1), *Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 1: Phương pháp Kjeldahl*
- [36] TCVN 8099-2 (ISO 8968-2), *Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 2: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp Macro)*
- [37] TCVN 6835 (ISO 9622), *Sữa nguyên chất – Xác định hàm lượng milkfat, protein và lactoza – Hướng dẫn vận hành thiết bị đo vùng hồng ngoại giữa.*
-