

## 快速分析

## 中药陈皮提取物粉末中糊精含量近红外分析方法的验证和不确定度评估\*

王馨<sup>1</sup>, 徐冰<sup>1,2\*\*</sup>, 薛忠<sup>3</sup>, 杨婵<sup>1</sup>, 张志强<sup>2,4</sup>, 史新元<sup>1,2</sup>, 乔延江<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 北京中医药大学 中药信息工程研究中心, 北京 100029; 2. 中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室, 北京 100029;  
3. 河北医科大学 药学院, 石家庄 050017; 4. 北京同仁堂药业有限公司, 北京 101301)

**摘要** 目的: 建立陈皮提取物粉末中辅料糊精含量近红外定量的方法验证和不确定度计算的全局评价策略。方法: 通过采集已知不同含量糊精和陈皮混合样品的近红外光谱信息, 建立偏最小二乘模型(PLS), 基于 $\beta$ -容度容忍区间( $\beta$ -CTI)建立准确度曲线对近红外(near infrared, NIR)分析方法进行验证, 并通过 $\beta$ -CTI进行不确定度评估。结果: 浓度水平为1%、3%、5%时, 分析方法的准确度在可接受范围之外, 该方法不可接受; 浓度水平为7%和10%时, 分析方法的准确度在可接受范围之内, 该方法可以接受。所建NIR分析方法的最低定量限约等于5.73%。不确定度评估表明该方法在浓度较高时, 方法的不确定度较好。结论: 通过引入 $\beta$ -CTI同时进行方法验证和不确定度计算的全局评价策略可以有效保障方法的可靠性和准确性, 有效降低分析方法在日常应用中的风险, 为其他分析方法的评价提供借鉴。

**关键词:** 近红外; 方法验证; 准确度曲线; 不确定度;  $\beta$ -容度容忍区间; 陈皮

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2017)02-0339-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.02.23

## Validation and uncertainty evaluation for the NIR quantitative analysis of dextrin in Chinese herbal tangerine peel powder\*

WANG Xin<sup>1</sup>, XU Bing<sup>1,2\*\*</sup>, XUE Zhong<sup>3</sup>, YANG Chan<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-qiang<sup>2,4</sup>,  
SHI Xin-yuan<sup>1,2</sup>, QIAO Yan-jiang<sup>1,2\*\*</sup>

(1. Research Center of TCM Information Engineering, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Beijing Key Laboratory for Production Process Control and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 4. Beijing Temages Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101301, China)

**Abstract Objective:** To establish an overall evaluation strategy for the validation and uncertainty evaluation of near infrared (NIR) quantification of dextrin in dried tangerine. **Methods:** Through collecting the NIR spectral

\* 国家自然科学基金项目(81403112); 北京市自然科学基金项目(7154217); 中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室2015年度科技创新基地培育与发展专项项目(Z151100001615065)

\*\* 通信作者 徐冰 Tel:(010)84738650; E-mail: xubing@bucm.edu.cn

乔延江 Tel:(010)84738621; E-mail: yjqiao@263.net

第一作者 Tel: 18810467277; E-mail: wangxin920508@163.com

information of mixed samples with different contents of dextrin in dried tangerine, the NIR quantitative PLS model was built. Based on the  $\beta$ -content tolerance interval ( $\beta$ -CTI), the accuracy profile (AP) was established to validate the NIR analytical method and the uncertainty was also evaluated by the  $\beta$ -CTI. **Results:** When the dextrin content was 1%, 3%, 5% the accuracy was beyond acceptable limit and the method is unacceptable; When the dextrin content was 7%, 10% the accuracy was within acceptable limit and the method is acceptable. The lower limit of quantification (LLOQ) of the method was approximately equal to 5.73%. Uncertainty evaluation showed that the method had a good uncertainty at higher contents. **Conclusion:** The overall evaluation strategy for validation and uncertainty assessment at the same time through the introduction of  $\beta$ -CTI can ensure the reliability and accuracy of method, reduce the risk of method in the daily use, and provide reference for the evaluation of other analytical methods.

**Keywords:** near infrared; method validation; accuracy profile; uncertainty;  $\beta$ -content tolerance interval; dried tangerine peel

近年来,近红外(near infrared, NIR)光谱法以其独特的优势,广泛地应用于农业<sup>[1]</sup>、食品<sup>[2]</sup>、药品<sup>[3]</sup>等行业。越来越多的NIR分析方法被开发和应用,NIR方法预测结果的质量也受到越来越多研究者和实验室的关注。

按照ISO17025定义,完整的定量分析方法包括优化选择(经验选择)、实验设计、方法开发、实验室内方法验证、实验室间方法验证、方法不确定度分析、日常使用、定期重新方法验证8个步骤,其中,分析方法的验证和不确定度研究是分析领域的热点难点问题。方法验证和测量结果不确定度评估是为了保证分析结果的有效性和可靠性,对于符合国际标准ISO17025的实验室这2个概念是强制性的<sup>[4]</sup>。

验证的目的是证明采用的方法适合于相应检测的要求。对于NIR分析方法的验证,主要有ICH Q2(R1)验证和决策方法验证<sup>[5]</sup>。其中,决策方法验证中包含的准确度曲线(accuracy profile, AP)<sup>[6-8]</sup>的方法相对于其他验证方法更加简单、全面、有效,能够给出分析方法在不同浓度下的准确度和在实际应用中的预测能力,现已被应用于制剂中水分、活性成分的NIR定量分析方法的验证<sup>[9-11]</sup>。而通过引入 $\beta$ -CTI代替 $\beta$ -ETI构建AP,完成对NIR方法的验证,为分析方法验证提供了新的思路<sup>[12]</sup>。

测量结果不确定度评估作为一种科学、合理的验证手段及质量控制方法,正越来越多地被引入药学领域,是和方法验证同样重要的内容。随着各种规范分析方法验证法规的相继颁布和国内实验室认可工作的开展,建立并应用不确定度评估程序成

为评价分析方法的必要步骤。相对于传统的自下而上(Bottom-up)<sup>[13]</sup>和自上而下(Top-down)方法<sup>[14]</sup>,基于 $\beta$ -期望容忍区间( $\beta$ -expectation tolerance interval,  $\beta$ -ETI)<sup>[15]</sup>和 $\beta$ -容度容忍区间( $\beta$ -content tolerance interval,  $\beta$ -CTI)<sup>[16]</sup>来计算分析方法的测量不确定度更加方便有效,为基于验证数据的不确定度测算提供了便捷途径。由于 $\beta$ -CTI可以更加充分地对NIR的测量不确定度进行评估<sup>[17]</sup>,因此,目前多用 $\beta$ -CTI来评估中药NIR定量分析方法的不确定度<sup>[18]</sup>。

本文以NIR快速测定中药陈皮提取物粉末中辅料糊精的定量方法为载体,通过引入 $\beta$ -CTI同时完成对NIR定量分析方法的AP验证和不确定度评价,保证分析方法的有效性和可靠性,降低分析方法在日常应用中的风险,以期为其他分析方法的评价提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Antaris近红外光谱仪(Thermo Nicolet公司), Sartorius BS 124电子天平(Sartorius公司), XW-80A涡旋仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。陈皮提取物粉末(北京康仁堂药业有限公司,批号131204),糊精(北京康仁堂药业有限公司,批号14070114062)。

### 1.2 光谱采集

采用Antaris傅里叶变换近红外光谱仪,积分球附件采集漫反射光谱,采集前将样品置于涡旋仪上充分混合均匀,采集时使用Sample Cup Spinner配件旋转样品杯,每个样品扫描32次。以仪器内置背景做

参比,分辨率  $8\text{ cm}^{-1}$ ,波数范围  $10\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 。

### 1.3 实验设计

**1.3.1 校正实验设计** 精密称取一定量糊精和陈皮提取物粉末,混合均匀,使混合物中糊精含量为 1%~10% 共 20 个样品; 11%~20% 共 20 个样品; 21%~30% 共 20 个样品; 31%~40% 共 20 个样品; 41%~50% 共 20 个样品,每份样品的总重为 5.000 0 g。

**1.3.2 验证实验设计** 设定 5 个糊精辅料浓度水平的样品 (1%、3%、5%、7%、10%) 对方法进行验证。选取  $3\times 5\times 3$  的析因实验设计方案,即实验分 3 d 进行,每天 1 次,每次实验包含 5 个浓度水平,每个浓度水平进行 3 次平行实验,共 45 个验证样品。

### 1.4 数据处理

采用 SIMCA-P 11.5 (Umetrics 公司) 及 Unscrambler 7.0 (CAMO 公司) 软件对光谱进行预处理,采用 Matlab 7.0 (Mathwork 公司) 软件进行样本集划分、数据预处理、变量筛选、准确度曲线构建和不确定度计算。

## 2 结果与讨论

### 2.1 定量模型建立

**2.1.1 样本划分** 采用 K-S (Kennard-Stone) 法将 100 个样本划分为校正集 (66 个) 和验证集 (34 个)。

**2.1.2 光谱预处理** 对“陈皮提取物粉末-糊精”样

品的近红外光谱使用以下预处理方法进行校正: 考察采用多元散射校正 (multiplicative signal correction, MSC) 和标准正态变换 (standard normal variate, SNV) 消除各批次间样品粒度分布不均匀及粉末颗粒大小不同产生的散射对其光谱的影响; 对光谱数据进行小波去噪 (wavelet denoising, WDS) 和卷积平滑 (Savitzky-Golay, S-G) 处理以消除噪音对光谱的影响; 对光谱数据进行一阶导数 (1std) 和二阶导数 (2nnd) 处理以消除光谱基线漂移, 强化谱带特征, 克服谱带重叠。各预处理方法建模结果见表 1。由表 1 可以看出, SNV 处理方法结果最好, 光谱经预处理后, 潜变量因子数 (latent variables, LVs) 为 8 时, 校正集相关系数 ( $r_{\text{cal}}$ ) 和验证集相关系数 ( $r_{\text{val}}$ ) 分别为 0.999 3 和 0.999 0, 校正集误差均方根 (the root mean squared error of calibration, RMSEC)、交叉验证误差均方根 (the root mean squared error of cross-validation, RMSECV) 和预测集误差均方根 (the root mean squared error of prediction, RMSEP) 分别为 0.568%、0.719% 和 0.584%, 校正集偏差 ( $\text{BIAS}_{\text{cal}}$ ) 和验证集偏差 ( $\text{BIAS}_{\text{val}}$ ) 分别为 0.437 和 0.466, 定量模型性能 (the ratio of performance to deviation, RPD) 由 20.0 增加到 22.1, 因此采用 SNV 预处理方法作为光谱预处理方法。

表 1 不同预处理方法的建模结果

Tab. 1 PLS results with different preprocessing methods

预处理 (pretreatment)	LVs	校正集 (calibration)				验证集 (validation)			
		$r_{\text{cal}}$	RMSEC	RMSECV	$\text{BIAS}_{\text{cal}}$	$r_{\text{val}}$	RMSEP	RPD	$\text{BIAS}_{\text{val}}$
Origin	10	0.999 6	0.444	0.815	0.378	0.998 7	0.643	20.0	0.513
SNV	8	0.999 3	0.568	0.719	0.437	0.999 0	0.584	22.1	0.466
MSC	8	0.999 3	0.568	0.720	0.438	0.999 0	0.585	22.0	0.466
1std	5	1.000 0	0.124	0.855	0.097	0.998 7	0.657	19.6	0.542
2nnd	4	0.999 4	0.535	2.205	0.436	0.993 9	1.588	8.12	1.106
WDS	6	0.995 0	1.503	1.798	1.109	0.994 7	1.318	9.64	1.054
S-G	8	0.998 6	0.803	1.118	0.624	0.997 4	0.918	14.0	0.780
S-G+1std	7	0.999 9	0.217	0.862	0.181	0.998 8	0.644	20.0	0.541

**2.1.3 变量筛选及模型的建立** 光谱经过 SNV 预处理之后, 为了更好地提高模型的性能, 提高所建方法的预测准确性, 本文采用无用信息删除 (uninformative variables elimination, UVE)<sup>[19]</sup>、连续投影算法 (successive projections algorithm, SPA)<sup>[20]</sup> 以及自适应

重加权取样 (competitive adaptive reweighted sampling, CARS)<sup>[21]</sup> 3 种方法来进行光谱变量筛选。并将筛选后的变量用于 PLS 建模, 建模结果如表 2 所示。由表 2 可以看出, 经过 SPA 和 CARS 变量筛选后, 模型性能并没有提高反而降低, 可能是由于经过 SPA 和 CARS

变量筛选后保留的变量数较少,信息缺失,无法完整地关联陈皮提取物粉末中辅料糊精的含量。而经过 UVE 变量筛选后所建模型性能最优,与未经变量筛选所建模型相比较,各项评价参数都有所提高。

RMSEC 和 RMSECV 由 0.568 和 0.719 降低为 0.277 和 0.487,模型性能指数 RPD 由 22.1 升高至 27.1。表明 UVE 对于所建 NIR 定量分析方法是一种有效的变量筛选方法,能够简化预测模型,提高模型性能。

表 2 不同变量筛选方法的建模结果

Tab. 2 PLS results with different variable selection methods

预处理 (pretreatment)	变量数 (number of variables)	LVs	校正集 (calibration)				验证集 (validation)			
			$r_{cal}$	RMSEC	RMSECV	BIAS <sub>cal</sub>	$r_{val}$	RMSEP	RPD	BIAS <sub>val</sub>
None	1 557	8	0.999 3	0.568	0.719	0.44	0.999 0	0.584	22.1	0.466
SPA	7	6	0.995 2	1.478	1.747	1.116	0.995 8	1.200	10.8	0.948
CARS	60	8	0.999 7	0.342	0.536	0.279	0.998 9	0.668	19.3	0.495
UVE	507	10	0.999 8	0.277	0.487	0.221	0.999 3	0.477	27.1	0.341

## 2.2 方法验证

验证实验所得数据对 NIR 分析方法进行验证。由于  $\beta$ -CTI 可以更加充分地估计总误差,即随机误差和系统误差之和,并且方便不确定度的计算,完成方法的全局评价。本文采用  $\beta$ -CTI 来构建 AP

对 NIR 分析方法进行验证,具体原理与算法参见文献[12]。对于  $\beta$ -CTI 的计算,选择  $\beta=66.7\%$ ,  $\gamma=90\%$ <sup>[22-23]</sup>,表示总体的 66.7% 有 90% 的可能性落入  $\beta$ -CTI 范围内。NIR 分析方法验证的可接受限设为  $\pm 20\%$ <sup>[18,24]</sup>。验证结果如表 3 和图 1 所示。

表 3 验证试验结果

Tab. 3 Validation results

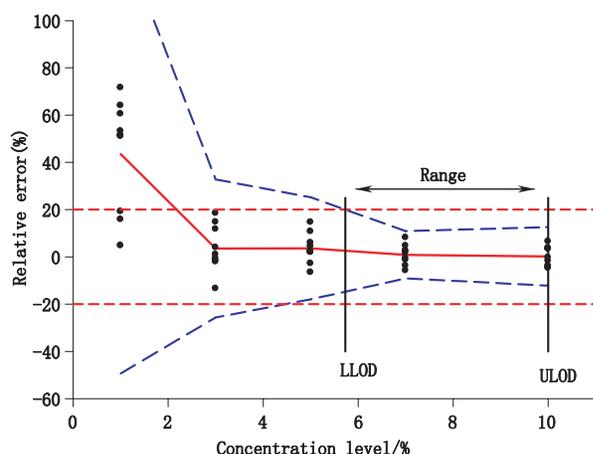
水平 (level)/%	均值 (mean)	真实性 (authenticity)		精密度 (precision)		准确度 (accuracy)
		相对偏差 (relative deviation)/%	回收率 (recovery)/%	重复性 (repetition)/%	中间精密度 (intermediate precision)/%	$\beta$ -CTI/%
1	1.43	43.5	143.5	8.3	27.2	[-49.37, +136.32]
3	3.11	3.6	103.5	8.4	10.4	[-25.65, +32.76]
5	5.18	3.6	103.6	4.5	7.0	[-17.98, +25.21]
7	7.06	0.86	100.8	4.3	4.3	[-9.14, +10.87]
10	10.02	0.19	100.2	3.5	4.4	[-12.20, +12.59]

**2.2.1 真实性** 真实性表示真实值(本文为称量参考值)与实验平均值(本文为近红外预测值)之间的接近程度,由系统误差造成。各浓度水平验证结果的真实性分别用相对误差、回收率表示。如表 3 所示。由表 3 得出,糊精含量浓度在 1% 时,真实性较差,相对偏差为 43.5%;而随着浓度的增加,相对偏差有逐渐减小的趋势,在浓度为 3%、5%、7%、10% 时,相对偏差分别为 3.6%、3.6%、0.86%、0.19%。

**2.2.2 精密度** 精密度表示一系列实验值(本文为近红外预测值)之间的接近程度,由随机误差造成。如表 3 所示,由重复性和中间精密度表示。随着分

析浓度的降低,精密度逐渐变大。在浓度水平为 1% 和 3% 时,重复性和中间紧密度较差,分别为 8.3%、27.2% 和 8.4%、10.4%;而随着浓度的提高,方法的精密度也在不断提高,在浓度水平为 5%、7%、10% 时,精密度相对较好。

**2.2.3 准确度** 准确度是系统误差和随机误差的总和的表示,在本文中以  $\beta$ -CTI 表示。在图 1 中,浓度水平为 1%、3%、5% 时, $\beta$ -CTI 上下限超过了可接受限( $\pm 20\%$ ),表示在这些浓度水平下准确度较低,NIR 分析方法不可接受。在浓度水平 7%、10% 时, $\beta$ -期望容许区间上下限未超过可接受限  $\pm 20\%$ ,表示在这些浓度水平下准确度较高,NIR 分析方法可接受。



红色实线是相对偏差,蓝色中等虚线是  $\beta$ -容度容许区间上下限,红色短虚线是可接受限 ( $\pm 20\%$ ), 9 个黑色点为各个浓度水平下每个测量值的相对偏差 (the red line is the relative bias, the blue medium dashed lines are the  $\beta$ -content,  $\gamma$ -confidence tolerance intervals ( $\gamma=90\%$ ) and the red short dashed lines are the acceptance limits ( $\pm 20\%$ ), the 9 black points at each concentration level are relative bias for each predictive value)

图 1 准确度曲线

Fig. 1 Accuracy profile

**2.2.4 可接受限  $\beta$ -CTI 上下限和可接受限的交点** 定义为方法的最低定量限 (lower limit of quantification, LLOQ) 和最高定量限 (upper limit of quantification, ULOQ)。如果  $\beta$ -CTI 上下限和可接受限没有交点, 那么所研究浓度水平的最低浓度水平即为 LLOQ, 所研究浓度水平的最高浓度即为 ULOQ。由图 1 可以计算得到, LLOQ 为 5.73%, ULOQ 为 10%。

**2.2.5 范围** 最低定量限和最高定量限给出了该 NIR 定量分析方法能够准确定量的范围, 因此有效的定量范围为 5.73%~10%。

**2.2.6 线性** 分析方法的线性是指分析样品在某一指定范围获得的结果与浓度 (或含量) 成正比关系的能力。近红外预测值和理论实际值之间的线性方程为:

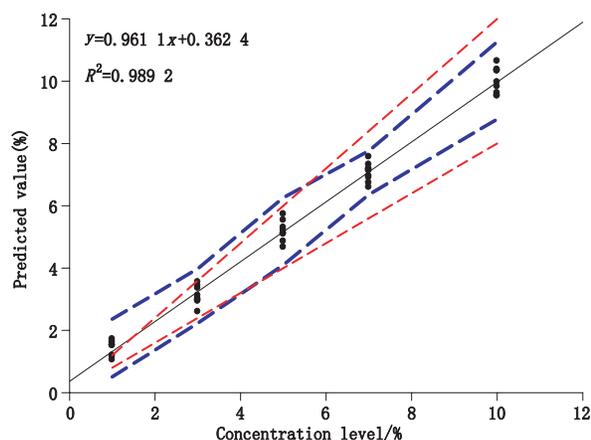
$$y=0.9611x+0.3624, R^2=0.9892$$

表明近红外预测值和理论实际值之间线性关系良好。如图 2 所示, 在浓度范围为 5.73%~10% 时,  $\beta$ -容度容许区间上下限在可接受范围内, 因此在此范围的线性关系得到有效证明。

**2.3 不确定度评估**

不确定度是与测量本身相关用来表征测量结果分散程度的参数<sup>[25-26]</sup>。不确定度的计算过程如下<sup>[16,27]</sup>:

$$u(Y) = \frac{h-l}{2t_v} \quad (1)$$



蓝色短虚线是绝对  $\beta$ -容度容许区间, 红色短虚线为可接受限  $\pm 20\%$ 。连续的黑线为标示线  $y=x$  (the blue medium dashed lines are absolute  $\beta$ -CTI intervals ( $\gamma=90\%$ ), and red short dashed lines represent the accepted limits at  $\pm 20\%$ . The continuous line is the identity line  $y=x$ )

图 2 线性曲线

Fig. 2 Linear profile

公式(1)中  $h$  是  $\beta$ -CTI 的上限,  $l$  是  $\beta$ -CTI 的下限。  $t_v$  是在自由度为  $\nu$  时 Student's  $t$  分布的  $(1+\gamma)/2$  分位数。对于对称数据,  $\nu$  可以通过萨特思韦特公式计算得到<sup>[28]</sup>。

分析方法的扩展不确定度  $U(Y)$  可由公式(2)给出:

$$U(Y) = p \times u(Y) \quad (2)$$

$p$  是覆盖因子, 和置信水平相关。当置信水平为 95% 时,  $p$  约等于 2, 扩展不确定度表示测量值落在  $\pm U(Y)$  的概率为 95%。

表 4 展示了 NIR 分析方法在各个浓度水平的不确定度。从表 4 可以看出浓度较低时 (1%), 相对扩展不确定度较大 (68.88%)。随着浓度的升高, 相对扩展不确定度在逐渐降低。当浓度水平为 7% 时, 相对扩展不确定度最小, 为 10.69%, 表示在该浓度水平下, 有 95% 的置信水平, 测量值落在  $\pm 10.69\%$  范围内。

表 4 NIR 方法的不确定度

Tab. 4 Uncertainty of NIR method

浓度水平 (concentration level) / %	不确定度 (uncertainty) / %	扩展不确定度 (expanded uncertainty) / %	相对扩展不确定度 (relative expanded uncertainty) / %
1	34.44	0.69	68.88
3	14.65	0.88	29.30
5	9.87	0.99	19.75
7	5.34	0.75	10.69
10	6.20	1.24	12.40

### 3 结论

本文建立了准确快速分析中药陈皮提取物粉末中糊精含量的 NIR 定量分析方法, 通过引入  $\beta$ -CTI 提出了同时对 NIR 分析方法进行验证和不确定度评估的全局评价策略。该策略可以有效保障分析方法的有效性和可靠性, 降低在日常应用中的风险, 为其他分析方法的评估提供有益的参考。

### 参考文献

- [ 1 ] 孙通, 耿响, 刘木华. 基于近红外光谱和变量优选的棉麻混纺织物棉含量快速检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(12): 3257  
SUN T, GENG X, LIU MH. Determination of cotton content in cotton/ramie blended fabric by NIR spectra and variable selection methods[J]. Spectrosc Spect Anal, 2014, 34(12): 3257
- [ 2 ] PIERNA JAF, ABBAS O, LECLER B, *et al.* NIR fingerprint screening for early control of non-conformity at feed mills[J]. Food Chem, 2015, 189: 2
- [ 3 ] CARDENAS V, CORDOBES M, BLANCO M, *et al.* Strategy for design NIR calibration sets based on process spectrum and model space: An innovative approach for process analytical technology[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 114: 28
- [ 4 ] ISO/DIS 17025, General requirements for the competence of calibration and testing laboratories[S]. 2005
- [ 5 ] BLEYE CD, CHAVEZ PF, MANTANUS J, *et al.* Critical review of near-infrared spectroscopic methods validations in pharmaceutical applications[J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 69: 125
- [ 6 ] HUBERT P, NGUYEN-HUU JJ, BOULANGER B, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal—part I[J]. J Pharm Biomed Anal, 2004, 36(3): 579
- [ 7 ] HUBERT P, NGUYEN-HUU JJ, BOULANGER B, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal—Part II[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 45(1): 70
- [ 8 ] HUBERT P, NGUYEN-HUU JJ, BOULANGER B, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal—Part III[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 45(1): 82
- [ 9 ] MANTANUS J, ZIÉMONS E, LEBRUN P, *et al.* Moisture content determination of pharmaceutical pellets by near infrared spectroscopy: method development and validation[J]. Anal Chim Acta, 2009, 642(1/2): 186
- [ 10 ] WU Z, XU B, DU M, *et al.* Validation of a NIR quantification method for the determination of chlorogenic acid in *Lonicera japonica* solution in ethanol precipitation process[J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 62: 1
- [ 11 ] SCHAEFER C, CLICQ D, LECOMTE C, *et al.* A Process Analytical Technology (PAT) approach to control a new API manufacturing process: Development, validation and implementation[J]. Talanta, 2014, 120: 114
- [ 12 ] XUE Z, XU B, YANG C, *et al.* Method validation for the analysis of licorice acid in the blending process by near infrared diffuse reflectance spectroscopy[J]. Anal Methods, 2015, 7(14): 5830
- [ 13 ] Joint Committee for Guides in Metrology. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement[S]. 2008
- [ 14 ] Analytical Method Committee. Uncertainty of measurement: implications of its use in analytical science[J]. Analyst, 1995, 120: 2303
- [ 15 ] FEINBERG M, BOULANGER B, DEWÈW, *et al.* New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data[J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 380(3): 502
- [ 16 ] SAFFAJ T, IHSSANE B. Uncertainty profiles for the validation of analytical methods[J]. Talanta, 2011, 85: 1535
- [ 17 ] 徐冰, 薛忠, 罗赣, 等. 基于  $\beta$ -容度容忍区间的血塞通注射液近红外定量分析不确定度评估[J]. 中草药, 2015, 46(6): 832  
XU B, XUE Z, LUO G, *et al.* Quantitative analysis on uncertainty evaluation using near infrared spectroscopy based on  $\beta$ -content tolerance interval[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2015, 46(6): 832
- [ 18 ] 薛忠, 徐冰, 刘倩, 等. 不确定度评估在中药近红外定量分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2657  
XUE Z, XU B, LIU Q, *et al.* Application of uncertainty assessment in NIR quantitative analysis of traditional Chinese medicine[J]. Spectrosc Spect Anal, 2014, 34(10): 2657
- [ 19 ] CENTNER V, MASSART DL, de NOORD OE, *et al.* Elimination of uninformative variables for multivariate calibration[J]. Anal Chem, 1996, 68(21): 3851
- [ 20 ] ARAÚJO MCU, SALDANHA TCB, GALVÃO RKH, *et al.* The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis[J]. Chemometr Intell Lab Syst, 57(2001): 65
- [ 21 ] LI H, LIANG Y, XU Q, *et al.* Key wavelengths screening using competitive adaptive reweighted sampling method for multivariate calibration[J]. Anal Chim Acta, 2009, 648(1): 77
- [ 22 ] HOFFMAN D, KRINGLE R. A total error approach for the validation of quantitative analytical methods[J]. Pharm Res, 2007, 24(6): 1157
- [ 23 ] HOFFMAN D. Statistical considerations for assessment of bioanalytical incurred sample reproducibility[J]. AAPS J, 2009, 11(3): 570
- [ 24 ] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Harmonized Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedure: Text and Methodology Q2 (R1). US, 1994-10-27 [EB/OL]. (2005-11) [2017-01-04]. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_R1/Step\\_4/Q2\\_R1\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step_4/Q2_R1_Guideline.pdf)
- [ 25 ] BIPM, IEC, IFCC, *et al.* International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM)[S]. 1993
- [ 26 ] BIPM, IEC, IFCC, *et al.* Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)[S]. 1993
- [ 27 ] SAFFAJ T, IHSSANE B, JHILAL F, *et al.* Concentration, detection and discrimination of Bacillus anthracis spores in orange juice using aptamer based surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Analyst, 2013, 138(16): 4677
- [ 28 ] MEE R.  $\beta$ -Expectation and  $\beta$ -content tolerance limits for balanced one-way ANOVA Random Model[J]. Technometrics, 1984, 26(26): 251

(本文于 2016 年 3 月 14 日收到)