

環境計測学2回目：サンプリング、試料の取り扱いおよび調製

分析試料がもとの物質を代表していない場合、どんなに分析方法が良くても、どんなに慎重に分析を行ったとしても、測定した分析結果をもとの物質の真の値に結びつけることは不可能である。

分析方法が改善され、より少量の試料の使用で分析できるようになるに従って、サンプリングに基づく誤差が大きくなり、かつ、分析全体の不確かさが増大する。

サンプリングは常に誤差発生要因になるが、サンプリング誤差は、測定標準あるいは標準試料を使用しても抑えられない。

試料採取法は公定法などに詳細に規定されている場合も多く、その場合には、それらに従わなければならない。また、試料採取時、現場での状況をできるだけ記録し、測定・分析データと比較、考慮することにより、結果の信頼性と妥当性を高めることができる。

分析値取得のプロセス

1. 試料採取
採取環境、採取条件、採取範囲、サンプル数などの吟味
2. 試料の化学・物理処理
溶解・分離など
3. 分析
容量分析、重量分析、機器分析
4. データ測定
バックグラウンド測定、検量線法、標準添加法、内標準法
5. データの処理
6. 分析値の確定

試料採取および前処理にあたっての注意事項

1. 採取地域の現状の把握
 - (a) 調査の内容 A. 広域調査、B. 定点調査
 - (b) 調査項目と調査方法(サンプル数など)
2. 試料採取
採取・捕集方法、時間、温度、天候、pH、質量、体積、容器
2. 試料の保存
乾燥、蒸発、時間、温度、容器、添加物、冷蔵、冷凍
3. 試料の調製
分解、分離、濃縮、希釈、乾燥、蒸発

測定・分析の不確かさ

「不確かさ(uncertainty)」とは、分析値の「疑わしさ」を示すものであって、例えば標準偏差のようなパラメータとして、分析値のばらつきを示すものである。すなわち、「不確かさ」は幅で示されるものであって、その幅のなかに真の値が含まれる。

これに対して、「誤差」という用語は、分析値から真の値を差し引いた一つの数字で表されるべきものである。

「誤差」には2種類あり、一つは系統的なもので、その原因が明らかなものについては補正できる。もうひとつはランダムな補正できないものである。

従って誤差は補正することによって小さくできるが、「不確かさ」は補正できない。

「不確かさ」の要因

1. 測定対象成分の定義が不完全
(例えば、測定すべき分析対象成分の正確な化学形態が不明)
2. サンプルリング
3. 測定対象の不完全な抽出や濃縮
4. マトリックス効果および干渉
5. サンプルリングおよび試料調製時の汚染
6. 環境条件の測定操作への影響
7. アナログ計測器の読み取りの個人偏差
8. 重量測定および容量測定器具の不確かさ
9. 装置の偏り、分解能または分別閾値
10. 測定標準および標準物質の表示値
11. 他の情報源から引用した不確かな定数やパラメータ
12. 測定法および操作において取り入れた近似と仮定
13. ランダムなばらつき
14. 試薬純度
15. 分析者(熟練度)による人為的偏差
16. 電算機処理効果 誤った回帰式の利用 早い時期での四捨五入

分析法バリデーション (妥当性確認)

試験に用いる分析方法が意図した目的に合致していることを科学的に立証すること。

選択性・特異性・除染係数 (Selectivity, Specificity, Decontamination coefficient)

分析対象に含まれる主成分、分解物、不純物等のマトリックス成分の存在下で、目的の成分のみをそれらマトリックス成分に影響されることなく正確に測定できる能力。

真度・正確さ・分析法のバイアス (Trueness, Accuracy, Bias)

真の値、真の値と取り決めた値、認証値に対する得られた分析値の近さのこと。

マトリックスが同一の標準物質（スパイク試料）を分析することによって得られる。

精度

均質な試料からサンプリングした試料を、条件を変えて分析したとき、それぞれの測定値が一致する程度のこと。

併行精度と再現精度がある。

- (1) 併行制度(Repeatability)：短時間内に同一の試料を、同一の条件で、同一の分析者が繰り返して分析した時の分析結果のばらつきを標準偏差で表示したもの
- (2) 室内再現性(Intermediate Precision)：同一施設において、試験日、試験者、試薬、装置などを変えて試験を実施した際の精度
- (3) 室間再現性(Reproducibility)：試験所間比較により、日時、分析者、装置など条件を変えて同一試料を分析した時のばらつきを標準偏差で表したものの。

検出限界・検出能力 (Detection Limit/ Capability of detection)

試料に含まれる分析対象成分の検出可能な最低量又は最低濃度をいう。

特に定めのない場合は検出限界付近のシグナル・ノイズ比が3あるいは係数誤差の3倍とする。

当然ながら、検出限界は基準値（規制値）よりも小さくなければならない。

定量限界(Quantitation limit)・定量下限

適切な精度と正確さをもって定量できる分析対象成分の最低量又は最低濃度をいう。

通常、各分析法に定義し、明示された値とする。特に定めのない場合は、検出限界の3倍の値とする。(例：S/N 10以上、あるいは相対標準誤差が20%以下を保持できる最低の量または濃度)

直線性(Linearity)

分析対象成分の濃度に対して直接比例した測定出力応答量を与えることのできる能力。

(例：5点以上の濃度に対する測定結果を用いて回帰直線を計算し、相関係数とy切片を求める。相関係数：0.999以上)

分析法の適用範囲(Range)

当該分析法が適切な真度、精度、および直線性を与えて適用できる分析対象成分の濃度範囲

堅牢性・頑健性(Ruggedness/ Robustness)

測定・分析条件に多少の変化があっても分析結果への影響を回避できる能力。

測定・分析条件を比較的小さな範囲で故意に変動させて測定・分析操作を行い、測定・分析結果間の差が有意であるかどうか調べる。

堅牢性試験の結果、分析値がある特定の変動因子の影響を受けやすいことが判明したら、分析条件を適切に設定するか、あるいは分析法の文書化にあたって注意事項として盛り込む。

感度(Sensitivity)

測定対象成分量に対して出力される応答量で、通常、検量線の傾きとして求められる。

回収率(Recovery)

分析対象成分を既知量含む試料(スパイクされた試料)を分析して得られた分析結果を、既知の量に対する割合として求めたもの。

標準的な分析バリデーションの手順

| 性能項目 | 実施方法 | 実施内容 |
|---------|-------------------|---|
| 併行精度 | 試料の繰り返し分析 | 各マトリックスの異なる試料毎に 10 回以上 |
| 再現制度 | 異なる分析者による | 異なる試験所、異なる装置、数日間にわたる繰り返し分析 10 回 |
| 堅牢性 | 試料、スパイク試料、標準物質の分析 | 各要因の変動に対し、変動ごとに 1 回 |
| 回収率 | スパイク試料、認証標準物質 | 各種の濃度で各 6 回以上分析 |
| 選択性・特異性 | スパイク試料、認証標準物質 | 妨害の可能性のある成分を含む試料で各 1 回以上の分析 |
| 定量限界 | スパイク試料 | |
| 範囲・直線性 | スパイク試料、標準物質 | 範囲全体にわたり 6 種類以上の濃度 6 点以上の濃度で各 3 回以上の分析 |
| 正確性 | (認証)標準物質 | 特定濃度で繰り返し 10 回以上の分析 |