

200501055A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心安全確保推進研究事業

食品中に残留する農薬等の規格基準に係る分析法における
不確実要素に関する調査研究

平成17年度 総括・分担研究年度終了報告書

主任研究者 松岡 英明

平成18(2006)年 4月

目 次

I. 総括研究年度終了報告

食品中に残留する農薬等の規格基準に係る分析法における

不確実要素に関する調査研究

1

松岡英明

II. 分担研究年度終了報告

1. 農薬等の分析値の不確かさ推定法に係わる手法の調査研究

3

松田りえ子

2. 標準添加法における不確かさおよび検出限界の推定に関する研究

7 3

松田りえ子・岩木和夫

3. 食品マトリクスに応じた最適前処理技術の検討

8 0

松岡英明

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）
総括研究年度終了報告書

食品中に残留する農薬等の規格基準に係る分析法における
不確実要素に関する調査研究

主任研究者 松岡 英明 東京農工大学 大学院共生科学技術研究部 教授

研究要旨

食品検査において、分析結果の不確かさを評価し、提示することは、今日、国際的に要請されている。その具体的方法は分析対象によって個々に検討する必要がある。本研究は、食品中の残留農薬等の化学分析に適用できる推定法を提示し、国際動向に対応することを目的として、(1) 農薬等の分析値の不確かさ推定法に係わる手法の調査研究、(2) 標準添加法における不確かさおよび検出限界の推定に関する研究、(3) 食品マトリクスに応じた最適前処理技術の検討、を行う。本年度は3年計画の初年度であり、以下に示すように、当初の目的を達成した。

A. 研究目的

食品検査における化学分析結果が、国際的に正当性を得るためには、その分析値の不確かさを提示することが重要である。しかし、食品中の残留農薬等の分析に適用できる推定法は定まっていなかったため、その確立が急務となっていた。本研究は、食品中の残留農薬等の分析の不確かさについて、Codex 及び諸外国の取り組み状況等の国際的な情勢を調査し、これらを参考として、整合性・合理性のある食品中の残留農薬等の分析結果の不確かさの推定法を検討することを目的としており、具体的に (1) 農薬等の分析値の不確かさ推定法に係わる手法の調査研究、(2) 標準添加法における不確かさおよび検出限界の推定に関する研究、(3) 食品マトリクスに応じた最適前処理技術の検討、の各分担課題を設定した。

B. 研究方法

上記 (1) では、松田が、Codex 残留農薬委員会及び分析及びサンプリング法委員会、Eurachem/CITAC、等で討議ないし作成された文献を調査するとともに、当該文献の邦訳を行った。同時に、微生物試験の不確かさに関する状況についての調査も実施した。次年度は、標準的な共同試験あるいはインハウスバリデーションの方法を確立し、そこで得られたデータから不確かさを推定する方法を示す予定である。上記 (2) では、松田が岩木の協力の下に、残留農薬等分析法バリデーションの手法に関する国際的なガイドライン及び国内の情報の収集、及び、LC/MS あるいは LC/MS/MS 分析に即して標準添加法の不確かさに影響する因子についても検討した。上記 (3) では、松岡が、前処理技術としての超音波分離法に着目、その開発グループであるスウェーデン、ルント大学より研究員を招へい

し、共同実験により脂肪成分や微生物の分離条件について検討した。

C. 研究結果

上記(1)～(3)の研究結果はそれぞれ、以下の分担研究年度終了報告に詳述した。その要旨は次の通りである。

(1)に関しては、食品中の残留農薬等の分析における不確かさの推定には、トップダウン法の推奨が国際的動向であることを確認した。すなわち、バリデーションにより求めた室間精度あるいは室内精度、内部精度管理データから不確かさの計算法について指針を作成すれば、現在試験室が保有しているデータが使用できることになり、合理的な方向であると考えられた。

(2)に関しては、回帰直線の信頼区間を計算する方法を標準添加法に適用し、その不確かさと検出限界を求める方法を提示した。また、分析対象物の添加濃度、前処理の精度が標準添加法の不確かさに大きく影響することを示した。さらに、実際に標準添加法

の適用が考えられる試料と農薬の組み合わせを選び、分析条件を確立した次年度は、この系で実際に標準添加法を実施し、精度等を評価する予定である。

(3)に関しては、一般的な濾過法では分離が困難な食品の例である、生乳を選び、生乳中の脂肪粒、及び微生物(添加した大腸菌)が、それぞれ部分的にはあるが分離できる条件を見出した。次年度は、上記(1)及び(2)の進捗状況を見つつ、前処理条件と分析結果の曖昧さと関係に関する調査、及び必要に応じて実験を行う予定である。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

なし

F. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

農薬等の分析値の不確かさ推定法に係わる手法の調査研究

分担研究者 松田りえ子 国立医薬品食品衛生研究所食品部室長

研究要旨

今日では、化学分析値を含めた多くの分野で、その結果の不確かさ評価する方向にあり、ISO/IEC 17025 の 5.4.6 測定の不確かさの推定では、「試験所は、測定の不確かさを推定する手順を持ち適用する。」ことが求められている。しかし、食品中の残留農薬等の分析は複雑なマトリクス中からの微量の物質の分析であり、適切な不確かさの評価方法を検討することが急務である。本研究では、分析の不確かさについて、Codex 及び諸外国の取り組み状況等の国際的な情勢を調査した。Codex 残留農薬部会(CCPR)はいわゆるトップダウンアプローチを勧めている。このアプローチでは、共同試験で求めた室間精度あるいは内部精度管理で用いる室内精度を 1.6 倍した値等が、不確かさと同等のものと見なされる。トップダウンアプローチで正しく不確かさを推定するためには、バリデーションにより適切な室間精度あるいは室内精度を求める必要がある。現在、我が国では食品中の農薬等の分析法をバリデートする方法が標準化されておらず、個々の試験室が不確かさを推定する際に統一した方法が存在しない状況にある。従って、標準的な共同試験あるいはインハウスバリデーションの方法を確立し、そこで得られたデータから不確かさを推定する方法を示す事が重要である。

1993 年、ISO は他の 6 国際機関と共同して「計測における不確かさの表現のガイド(GUM)」を発行した。計測の不確かさは、元来物理量について考えられていたが、今日では、化学分析値を含めた多くの分野で、その結果の不確かさ評価する方向にあり、ISO/IEC 17025 の 5.4.6 測定の不確かさの推定では、「試験所は、測定の不確かさを推定する手順を持ち適用する。」ことが求められている。

このような動きをうけ、Codex 委員会においても、分析サンプリング部会においては、分析法の不確かさに関するドラフトガイドラインが審議され、2004 年には「測定の不確かさに関するガイドライン(CAC/GL 54-2004)」が作成された。ま

た、残留農薬部会においても測定値の不確かさの推定と結果の確認についての文書が審議された。

我が国においては、業務管理要領中で不確かさの推定方法を検討することが求められている。しかし、食品中の残留農薬等の分析は複雑なマトリクス中からの微量の物質の分析であり、煩雑な手順で分析が行われる。しかしながら、GUM 等の不確かさに関するガイドでは、これらの分析法に適用できる評価法は扱われておらず、適切な不確かさの評価方法を検討することが急務である。

本研究では、分析の不確かさについて、Codex 及び諸外国の取り組み状況等の国際的な情勢を調査し、これらを参考として、整合性・合理性のある食品中の残留

農薬等の分析結果の不確かさの推定法を検討する。

Codex 「測定の不確かさに関するガイドライン(CAC/GL 54-2004)」では、以下の事項を提言している。

1. 全ての分析結果に伴う測定の不確かさを推定すべきである。
2. 分析結果の測定の不確かさは多くの方法で推定できる。特に ISO 及び EURACHEM が示した手順は良く知られている。これらの文書では、component-by-component アプローチ、分析法バリデーションデータ、内部品質管理データ、技能試験データに基づいた手順を勧めている。他のデータが入手可能であり、不確かさの推定に使用できるなら、ISO の component-by-component アプローチを採用する必要はない。多くの場合、IUPAC/ISO/AOAC INTERNATIONAL 又は ISO5725 のプロトコルによる、多数の試験室と試料を用いた試験室間 (コラボラティブ) 試験により、不確かさが決定できる。
3. 測定の不確かさとその信頼レベルは、結果の使用者 (顧客) の要求に応じて、提供されなくてはならない。

このガイドに従えば、食品に係わる全ての分析結果に、不確かさを付与しなくてはならず、農薬の分析もその例外ではない。以下、CAC/GL 54-2004 で言及されている、GUM と Eurachem の文書内容を示す。

ISO 国際文書 計測における不確かさの表現のガイド

この文書は、ISO 及び他の 6 国際機関により作成された。表題 Guide to the expression of Uncertainty in Measurement から、GUM と略称されている。

GUM で与えられた不確かさの定義は、

「測定の結果に付随した、合理的に測定量に結びつけられ得る値のばらつきを特徴づけるパラメータ」である (2.2.3)。

注として、値のばらつきは標準偏差あるいは信頼水準を明示した区間の半分の値でも良いとされている。

不確かさの評価法としては A タイプと B タイプの 2 つが示されている (2.3)。A タイプは、一連の観測値の統計的解析によるものであり、B タイプはその他の手段であり、以前の測定データ、一般的知識や経験、仕様、校正成績書のデータ等が挙げられている (4.3)。

GUM では、結果に影響のある全ての成分について、A タイプあるいは B タイプの方法でその不確かさを推定し、それらを合成して不確かさを求める。成分毎の不確かさを合成し全体の不確かさを求める。この方法が、いわゆる component-by-component アプローチである。

EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement Second Edition

分析測定における不確かさの求め方

一般に化学分析は物理計測よりも、測定ステップ数が多く、それぞれのステップの不確かさを見積もることが困難である場合もある。従って、GUM が推奨する component-by-component による不確かさの計算が実際的でない場合がある。EURACHEM と CITAC が作成したこのガイドの序文では

「不確かさの評価に当たっては、分析者は、不確かさの要因となる可能性全てを、子細に観察しなければならない。一方、こういった詳細な検討にはかなりの労力を必要とするが、費やされる労力が不釣り合いに大きくなることは、非常に重要である。実際には、予備検討の段階で、最も重要な不確かさの要因がいくつか直ちに見つけられるし、例で示すよ

うに、これらの要因を結合した不確かさの値の寄与が大部分を占め、ほとんど全体を支配している。」

と述べられており、極端に大きな労力を費やさず、重要な寄与の大きい成分を同定して不確かさを求める方法を示している。このガイドでは、不確かさ推定は、以下の4つのステップに分けられる。

ステップ1 測定量の特定

ステップ2 不確かさの原因の同定

ステップ3 不確かさ成分の数値化

ステップ4 合成不確かさの計算

ステップ1では、測定量とそれが依存するパラメータ（測定される量、定数、校正の標準等）の関係を明確に捉え、ステップ2では不確かさの原因として可能性のある物を列挙する。この際に、その大きさを考える必要はない。

ステップ3で、それぞれの成分を数値化する。2つの方法が提示されている。

- ・個々の原因それぞれに起因する不確かさを評価し、第8章に述べる方法により結合する。

あるいは

- ・分析法性能データを用いて、これらの原因の全てあるいは一部に起因する、不確かさへの結合した寄与を直接求める。

実際には、二つの組み合わせが必要であり、便利でもある。

7.1.2 どちらの方式を用いるにしろ、不確かさ評価に必要な情報の大部分は、バリデーション結果、QA/QCデータ、分析法の性能チェックのために行われたその他の実験から、すでに得られていることが多い。

このように、EURACHEMのガイドでは、分析法バリデーション実験等のデータを用いて、多くの分析操作の結合不確かさを直接求める方法が示されている。このようなデータのソースとして、技能試験結果、信頼性保証(QA)データ、理論的モデル等が挙げられている。

2004年には、CCPRにより「測定の不確かさ推定及び結果の確認」に関する文書が作成された。また、EUでは「分析結果、測定の不確かさ、回収率係数及びEU食品・飼料法令の規定間の関係に関する報告」を作成した。これらの文書は、EURACHEMのガイドを受け、測定に不確かさを付すことを提言すると共に、その求め方についても言及している。

JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX COMMITTEE ON PESTICIDE RESIDUES

Estimation of Uncertainty of Measurements and Confirmation of Results,

測定の不確かさ推定及び結果の確認

この文書は、ISO文書及びEURACHEMガイダンスを元にして、実際的で明確な行動指針を与えると共に、開発の進んでいない国にも適用可能であることを目指して作成された。

文書を作成した専門家会議は、CCPRに対し、次のような提言を行った。

- i. 残留分析のGLPに関する改訂ガイドラインに、農薬のスクリーニングと確認という2段階手順の考え方を取り入れる；

- ii. 結果報告に関する現行のガイドラインを見直し、確認とスクリーニング実験のデータとそれに伴う不確かさの組み合わせを含める；

- iii. 仮に確認された残留物の考え方、及び暴露評価研究におけるその使用について検討する；

- iv. 測定の不確かさ推定には、要素毎の解析[ボトムアップ]と分析法の精度[トップダウン]の2つの基本的方法論があることを認識し、実際的な理由から、残留農薬分析にはトップダウンアプローチを推奨する。

- v. 提案した、結果の不確かさ推定ガイ

ドライン草案及び残留物の同定、確認、及び定量における質量分析の利用を、現行の残留分析の GLP に関する改訂ガイドラインに組み入れ、加盟国の残留農薬試験室が測定の不確かさを決定し文書化することを支持する

vi. 国際貿易における決定過程において、測定の不確かさを矛盾無く適用するためのガイドライン作成を、今後の作業として開始する。

提案の iv では、農薬分析の不確かさ測定において、実際的な理由から、残留農薬分析にはトップダウンアプローチを推奨することを明言している。さらに、実際にトップダウンアプローチを適用する際の基礎として、

- ・分析法バリデーション
 - ・試験室の管理試料から得られた長期間にわたる精度
 - ・公表された文献データ
 - ・室間共同試験
- 等が挙げられている。

また、膨大な数の作物中の多数の残留物を分析する農薬分析においては、組み合わせの数は実際上無限となるため、個々の分析法／分析対象物／マトリクスの組み合わせ毎に不確かさを確立する代わりに、物理化学的性質および成分に基づき、分析する残留物と作物を代表するように、適切に選択した範囲の分析対象物とマトリクスを用いることを推奨している。

また、推定した不確かさが現実的かどうかを評価するために、多数のデータに基づいた、残留農薬分析の主要段階で期待される典型的な不確かさが、表として掲載されている。

分析結果、測定の不確かさ、回収率係数及び EU 食品・飼料法令の規定間の関係に関する報告。

特に食品中の汚染物及び飼料中の望まし

くない物質に関する規制に関連する事項

この報告書では、

1. 法令による限度値に関連して、結果の報告及び解釈において考慮される有効数字の桁数

2. 規定の解釈における分析の変動（あるいは測定の不確かさ）の取り扱い

3. 分析結果の計算及び報告における回収率補正の使用

に関する問題点を取り上げ、EU 全体で食品規制の統一的な解釈が行われることを目指している。附属書には共通性の高い不確かさ推定法が示されているが、特定の方法が推奨されているわけではない。

さらに、現実的と考えられる不確かさの値が、化学分析と微生物分析について示されている。

化学分析の不確かさ

濃度	拡張不確かさ
100g/100g	4%
10g/100g	5%
1g/100g	8%
1g/kg	11%
100mg/kg	16%
10mg/kg	22%
1mg/kg	32%
< 100µg/kg	44%

微生物分析の不確かさ

カウント (実数)	カウント (常用対数)	拡張不確かさ
10000000	7	+/- 0.5
1000000	6	+/- 0.5
100000	5	+/- 0.5
10000	4	+/- 0.5
1000	3	+/- 0.5
100	2	+/- 0.5
10	1	+/- 0.5

不確かさと基準値への適合について

これまでに紹介した文書では、残留の測定値と対応する不確かさ区間がある時に、基準値への適合への考え方を示している。基準値が上限である場合、4つのケースが考えられる。

- i. 不確かさで限られた分析結果の下限が MRL より大きい。
- ii. 分析結果は MRL より大きいですが、不確かさの下限が MRL より小さい。
- iii. 分析結果は MRL より小さいが、不確かさの上限が MRL より大きい。
- iv. 不確かさで限られた分析結果の上限が MRL より小さい。

この4つのケースの内 i と iv の判断は明らかであり、i は不適、iv は適合となる。間の ii と iii つまり、不確かさ区間の中に基準値がある場合には、いずれの文書でも適合となるという判断をしている。

結論

農薬等の分析の不確かさ推定手法としては、CCPR の文書がいわゆるトップダウンアプローチを勧めている。このアプローチでは、共同試験で求めた室間精度あるいは内部精度管理で用いる室内精度を 1.6 倍した値等が、不確かさと同等のものに見なされる。

正しく不確かさを推定するためには、バリデーションにより適切な室間精度あるいは室内精度を求める必要がある。現在、我が国では食品中の農薬等の分析法をバリデートする方法が標準化されておらず、個々の試験室が不確かさを推定する際に統一した方法が存在しない状況にある。従って、標準的な共同試験あるいはインハウスバリデーションの方法を確立し、そこで得られたデータから不確かさを推定する方法を示す事が重要である。

研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

分析測定における不確かさの求め方
第二版

第二版への序文

化学定量分析の結果に基づいて、多くの重要な決定が下される。例を挙げれば、生産量の推定、材料が仕様や法的規制値に適合しているかのチェック、価格の評価などに、分析結果が使われる。分析結果に基づいて決定が下される場合には、分析結果の品質を示す何らかの指標を示すことが重要である。この指標により、現在の目的に対して分析結果がどの程度の信頼性を持っているかが表される。化学分析結果の使用者、特に国際貿易に関わる人々にとって、分析結果を入手するために費やされる労力のくり返しの低減化は、ますます大きな問題となってきている。この目的達成には、使用者自身の組織以外で得られたデータの信頼性が、必要条件である。試験室が信頼性保証手段を導入して、必要とされる品質のデータ供給能力を保証することが、公式に（多くの場合は法的に）要求事項とされている分析化学分野もある。このような手段には、以下に挙げる事項が含まれる；バリデートされた分析方法の使用；明文化された内部品質管理手法の使用；技能試験スキームへの参加；ISO17025[H.1]に基づく認定；測定結果のトレーサビリティの確立。

分析化学においては、規定された標準やSI単位へのトレーサビリティよりも、特定の分析法により得られた結果の精度の方が重視されてきた。この結果、法的な要求あるいは貿易上の必要性を満たすための「公定法」が使用されるようになった。しかしながら、結果の信頼性の確立が公式に要請されるにいたり、分析結果が、SI単位、標準試料、適用できる場合には定義法又は経験法（5.2）にトレーサブルであることが必須条件となった。ある標準へのトレーサビリティへの証拠を示すために、内部品質管理手法、技能試験、認定は有用である。

上記の要求事項の結果として、化学者の側は自分の分析結果の品質を示す必要に迫られている。結果に付与される信頼性の尺度を示して、目的への適合性を表明することはとりわけ重要である。ある結果が、使用した分析法にかかわらず、他の結果との一致が予測できる程度を示す手段も含まれる。このための有用な手段の一つが測定の不確かさである。

長年に渡って、化学者は測定の不確かさの概念を認識していたが、広い測定の領域を横断する、不確かさの評価と表示の一般規則が公式に確立されたのは、1993年に、ISOがBIPM、IEC、IFCC、IUPAC、IUPAP、OIMLの協力の下に、「測定の不確かさの表現のガイド」[H.2]を発行してからである。本EURACHEM文書は、化学分析において、ISOガイドの概念がどのように適用されうるかを示す。最初に、不確かさの概念及び不確かさと誤差の区別を示す。次に、Appendix Aの実例のプロセスにより、不確かさ評価の各段階を解説する。

不確かさの評価に当たっては、分析者は、不確かさの要因となる可能性全てを、子細に観察しなければならない。一方、こういった詳細な検討にはかなりの労力を必要とするが、費やされる労力が釣り合いに大きくならないことは、非常に重要である。実際には、予備検討の段階で、最も重要な不確かさの要因がいくつか直ちに見つけられるし、例で示すように、これらの要因を結合した不確かさの値の寄与が大部分を占め、ほとんど全体を支配している。さらに、特定の試験室で特定の方法を評価して得られた不確かさの推定値は、適切な品質管理により正当化されるなら、それ以後その試験室がその方法を用いて得た結果に適用可能である。方法や機器が変更されない限り、それ以上の労力は

不要である。変更された場合には、通常の再バリデーションの一部として、不確かさが見直される。

EURACHEM ガイド「分析測定における不確かさの求め方」の初版[H.3]は、ISO ガイドに基づいて、1995年に発行された。

化学試験室における不確かさ推定の実験の経験と、試験室への正式の品質保証の導入の必要性への自覚により、EURACHEM ガイド第二版が作成された。既存の品質保証手法から、測定の不確かさ評価に必要な多くの情報が得られることから、第二版では測定の不確かさを推定するための方法と品質保証手法の統合を強調している。従って、本ガイドでは、正式な ISO ガイドの原則に完全に従いつつ、バリデーション及び関連したデータを不確かさ推定に使用する方法を、明確に述べている。この方法は、ISO17025:1999[H.1]の要求事項にも適合している。

注 Appendix A に実例を示した。Appendix B は用語の定義の番号つきリストである。用語がテキスト中に始めて現れた時には太字で示し、かつこ内にリストの参照番号を付記した。定義は、主として International vocabulary of basic and general standard terms in Metrology (VIM) [H.4]、ガイド[H.2]、ISO3354 [H.5]から採用した。Appendix C では、測定結果に至るまでの、化学分析の全体構造を示した。Appendix D は不確かさの成分の同定に使われる一般的な手法と、必要に応じて行われる追加実験計画を示した。Appendix E は分析化学において不確かさを見積もる際に使われる統計処理法を示した。Appendix F は、検出限界付近での測定の不確かさに関する議論である。Appendix G では多くの場合に共通する不確かさの要因と、その大きさの推定方法を示す。参考文献は Appendix H に挙げた。

1. 適用範囲

1.1 本ガイドは、ISO「測定の不確かさの表現のガイド」[H.2]に採用された取り組み方を基本とした、定量化学分析における不確かさの評価と表現のための、詳細な案内である。ルーチン分析から基礎研究まで、さらに経験法から合理法(5.3 参照)までの、全ての分野における、正確さのあらゆるレベルに適用可能である。化学測定が必要とされ、かつ本ガイドの原則が適用できる共通分野を下記に列挙した。

- ・ 製造業における品質管理と品質保証
- ・ 規制に適合しているかの試験
- ・ 同意済みの方法を採用する際の試験
- ・ 標準品及び機器の校正
- ・ 標準試料の開発と認証に伴う測定
- ・ 研究開発

1.2 場合によっては、ガイドの追加が必要となる。特に、合意（複数回測定法を含む）による標準試料への値の付与は扱っていない。適合への表明に不確かさ推定値を使う方法と、低濃度での不確かさの表現と使用については、より進んだガイドが必要である。サンプリング操作に伴う不確かさを扱っていないことを明記する。

1.3 多くの部門の試験室で正式に品質保証手段が採用されたため、本第二版ガイドでは、以下に示す手法で得られたデータを用いて、測定の不確かさを推定する方法を示すことが可能となった。

- ・ 単一の試験室において単一の方法で得られた分析結果に対して、ある不確かさ要因が及ぼす影響の評価
- ・ 単一の試験室で実施されたある内部品質管理の結果
- ・ 数カ所の能力のある試験室間で実施された分析法バリデーションのための共同実験の結果
- ・ 試験室の能力評価のために行われた技能試験の結果

1.4 本ガイド全体を通じて、測定の実施でも、測定法能力評価においても、効率的な品質保証及び品

質管理が取り入れられており、測定過程が安定しておりかつ管理下にあることが仮定されている。このような手法には、適切な資格を有する職員、機器及び試薬の適切な保存と校正、適切な標準試料の使用、文書化された測定方法、適切な確認資料と管理図の使用などが含まれる。

2. 不確かさ

2.1 不確かさの定義

2.1.1 本ガイドで使用する（測定の）不確かさという用語の定義は、International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology [H.4]から採用した：

「測定の結果に付随した、合理的に測定量に結び付けられる得る値のばらつきを特徴付けるパラメータ」

注1 パラメータは、例えば標準偏差[B.24]（又は何倍かした値）または信頼区間の幅でもよい。

注2 一般に、測定の不確かさは多くの成分から構成されている。成分のいくつかは、一連の測定結果の統計的分布から評価でき、標準偏差によって表現できる。他の成分は、標準偏差によって表現可能であるが、経験もしくは他の情報により仮定した確率分布に基づいて評価される。ISOガイドでは、これらの場合をそれぞれ、タイプAとタイプBとして表している。

2.1.2 化学分析では、多くの場合、測定量[B.6]は分析対象成分の濃度である。しかし、色、pH等の他の量の測定に使われる化学分析もある。このため、一般用語である測定量を使用する。

2.1.3 一般的な用法では、不確かさという言葉は、疑わしさという一般的概念に関連する。本ガイドでは、形容詞のない不確かさは、上記の定義に伴うパラメータか、ある特定の値に関する知識が限られている状態を意味する。測定の不確かさは、測定の正当性に対する疑いを暗示しているわけではない。逆に、不確かさの知識は、測定結果の正当性に関する信頼性を向上させる。

2.2 不確かさの要因

2.2.1 実際には、分析結果が不確かになる原因の可能性は、以下に示すように多数ある。不完全な定義、サンプリング、マトリックスの効果と妨害、環境条件、重量及び容量機器の不確かさ、参照値、測定方法及び手順に伴う近似と仮定、ランダムな変動（不確かさの要因についての詳しい解説は6.7で行う）

2.3 不確かさの成分

2.3.1 全体の不確かさの推定では、それぞれの要因をとりあげ、その要因からの寄与を個別に取り扱う。個別の寄与のそれぞれを、不確かさの成分と呼ぶ。標準偏差で表示した不確かさの成分は、標準不確かさ[B.14]と呼ばれる。成分間に相関がある場合は、共分散を求めて考慮しなくてはならない。しかし、たいていはいくつかの成分の効果を結合して評価することが可能である。このようにすると、全体の労力が低減し、まとめて寄与を評価した成分間に相関があっても、改めて相関を考慮する必要がなくなる。

2.3.2 測定結果 y についての全体の不確かさは、合成標準不確かさ[B.15]と呼ばれ、 $u_c(y)$ で表される。合成標準不確かさは、全ての不確かさ成分を、評価した方法によらず、不確かさの伝播法則に従って結合して得られた総分散の平方根に等しい。（8参照）

2.3.3 大部分の分析化学の目的では、拡張不確かさ[B.16] U を使うべきである。拡張不確かさは、測定量が高い信頼性で存在すると信じられる区間を与える。合成標準不確かさ $u_c(y)$ に包含係数[B.17] k をかければ、拡張不確かさが得られる。係数 k は要求される信頼レベルに基づいて選択する。95%の信頼レベルの近似では、 k は2である。

注 測定量依存性の可能性のある他の測定結果の標準不確かさと合成する計算を可能にするためには、測定量の標準不確かさが求められるよう、包含係数を常に表示しなくてはならない。

2.4 誤差と不確かさ

2.4.1 誤差と不確かさを区別することが重要である。誤差[B.20]は、個々の結果と測定量の真値[B.3]の差と定義されている。当然、誤差は単一の値である。原理的には、既知の誤差の値は、結果を補正するために使用できる。

注 誤差は理想的な概念であり、誤差を正確に知ることはできない。

2.4.2 一方、不確かさは範囲の形で表され、試料のタイプを限定したある分析方法について推定するならば、このようにして記述される全ての定量に適用できる。一般に、不確かさの値によって、分析結果を補正することはできない。

2.4.3 もう少し違いについて述べるならば、補正された分析結果がたまたま測定量の真値に近いことがあるかもしれない。このとき、誤差は無視できる程度の大きさである。しかし、結果が真値にどの程度近いのか、分析者には全く分からないので、不確かさは依然として大きいままである。

2.4.4 分析結果の不確かさを、誤差そのもの、あるいは補正後にも残っている誤差を表していると解釈してはならない。

2.4.5 誤差には2つの成分があると考えられている。つまりランダム成分と系統的成分である。

2.4.6 偶然（ランダム）誤差[B.21]は、影響を与える要因の予測できない変動に起因する。このようなランダムな効果は、測定量をくり返し観測したときの変動をもたらす。分析結果のランダム誤差は補正することはできないが、通常、観測回数を増加することにより低減できる。

注1 一連の観測の算術平均[B.23]あるいは平均値の標準偏差は、平均値のランダム誤差ではないが、不確かさに関わる出版物でそのように書かれている物がある。これは、ランダムな効果による平均値の不確かさの尺度となる。このような効果に起因するランダム誤差の正確な値は知り得ない。

2.4.7 系統誤差[B.22]は、同じ測定量の数回の分析において、一定あるいは予測できる変動を示す、誤差の成分と定義される。系統誤差は測定回数とは独立であり、従って、一定の測定条件下で回数を増しても低減できない。

2.4.8 分析において試薬ブランクを差し引かないといった常に発生する系統誤差や、多点での機器の校正の不正確さは、ある測定値のレベルでは一定であるが、レベルが変わると共に変動する。

2.4.9 例えば、実験条件の制御が不十分な場合のように、一連の分析中に強度が系統的に変化する効果は、一定でない系統誤差として現れる。

例

1.1 セットの試料を化学分析する間に徐々に温度が変わると、分析結果がある傾向をもって変動する。

2. 実験中の時間に従って変化を示すセンサーやプローブは、一定でない系統誤差をもたらす。

2.4.10 実験結果に伴う、認識できる全ての重要な系統的効果を補正すべきである。

注 測定機器及びシステムは、しばしば、系統的な効果の補正のために、測定標準や標準試料を用いて調整あるいは校正される。これらの標準に伴う不確かさ、及び補正の不確かさも、考慮しなくてはならない。

2.4.11 これ以外のタイプの誤差として、疑似誤差または間違いがある。このタイプの誤差は測定を無効にしてしまう。典型的には、人間の失敗または機器の誤作動から発生する。このタイプの誤差の一般的な例は、いくつかの結果を記録するときの数字の転記の誤り、分校光度計のフローセルに入った泡、検査試料の偶然の相互汚染である。

2.4.12 このような誤差が発見された測定値は却下すべきであり、このような誤差を統計分析に入り込ませる試みをしてはならない。しかし、数字の転記のような誤差は、特に上の位に現れた時には、（正確に）修正可能である。

2.4.13 疑似誤差はいつも明らかとなるわけではなく、十分な数のくり返し測定が得られた場合のみ、外れ値の検定を適用してそのデータセット中の疑わしい値のチェックが可能となる。検定から肯定的な結果が得られたときには、注意して考えなくてはならない。可能であれば、分析者に確認を求める。一般に、純粋に統計的な結果だけに基づいて、結果を棄却するのは賢明ではない。

2.4.14 本ガイドを使用して推定される不確かさは、疑似誤差や間違いの可能性を許容しているわけではない。

3. 分析測定と不確かさ

3.1 分析法バリデーション

3.1.1 現実には、ルーチン試験に適用される分析法の目的への適合性の見積もりは、分析法バリデーション研究[H.7]を通して行われる。分析法バリデーションで得られるデータは、分析法全体の性能と、個々の因子の影響であり、これらのデータを適用して、分析法を通常に使用して得られた結果に伴う不確かさが推定できる。

3.1.2 分析法バリデーションは、分析法全体の性能パラメータの決定である。これらのパラメータは、分析法開発及び試験室間試験、またはそれに続くインハウスバリデーション手順の間に得られる。誤差又は不確かさの個々の要因が検討される典型的な場合は、使用している方法の全体の精度と有意差を比較するときのみである。第一に重要なことは、有意な影響の同定と（補正よりはむしろ）削除である。有意である可能性のある影響因子の大部分が同定され、全体の精度と比較したときの優位性をチェックされた結果、無視できることが示されることが多い。このような状況で、分析者が利用できるデータは、主として全体の性能の数字、それに加えて大部分の影響が有意ではない証拠と、残りの有意な影響の尺度である。

3.1.3 定量分析法の典型的なバリデーションにより、以下に示すパラメータの一部あるいは全部が得られる。

精度 精度に関する主要な尺度は、併行精度の標準偏差 s_r 、室間精度の標準偏差 s_R (ISO3534-1)、及び室内精度である。最後の項は s_{zi} と表示されることがあり、 i は変化させた要因の数を表す

(ISO5725-3:1994)。併行精度 s_r は、1つの試験室において、単一の操作者、器具、装置その他により短期間に観察される変動を示す。 s_r は試験室内または試験室間試験から推定される。特定の方法の室間精度の標準偏差 s_R は試験室間試験からのみ直接推定される。室間精度は、同一の試料を異なる試験室で分析したときに得られる変動を示す。室内精度は、単一の試験室内で時期、装置、操作者のような要因が1つ以上変化したときに得られる結果の変動に関連する。どの要因が一定に保たれているかにより、数字は異なる。通常、室内精度の推定値は試験室内で求められることがほとんどだが、試験室間試験から求めることもできる。全体の不確かさが、個々の変動を結合する方法で求められても、分析法全体の評価から求められていても、分析操作について観測された精度は、必須の成分となる。

偏り 分析法の偏りは、適切な標準試料又は添加実験により求められる。適当な参照値と比較して、全体の偏りを求めることは、認知された標準へのトレーサビリティ[B.12]を確立する上で重要である（3.2参照）。分析回収率（得られた値を期待される値で割る）で偏りが表現されることがある。偏りは、無視できることが示されるか、補正されるべきであるが、いずれの場合にも、偏りの決定に伴う不確かさは、全体の不確かさの必須成分として残る。

直線性 ある濃度範囲測定を行う分析法について、直線性は重要な特性である。純粋な標準品及び現実的な試料に対する応答の直線性が決定される。直線性は一般的に定量化されないが、点検または非直線性に関する有意差検定を用いてチェックされる。非直線性が有意であるときは、非直線の検量関数を使用するか、濃度範囲を限定することにより補正できる。残った直線からのずれは、広い濃度範囲における全体の精度の推定値、あるいは検量(Appendix E.3)に伴う不確かさによって記述できる。

検出限界 分析法バリデーションにおいては、検出限界を決定する目的は、分析法の実際的な操作範囲の下限の決定のみである。検出限界付近の不確かさを考えるときに注意と特殊な取り扱い(Appendix F)が必要であるが、どのように決定された検出限界であろうとも、不確かさの推定値に直接の関連はない。

頑健性又は堅牢性 分析法開発あるいはバリデーションの多くのプロトコルで、特定のパラメータに対する感受性を、直接検討することが求められている。これは予備的な「頑健性試験」で行われることが多い。頑健性試験では1つ以上のパラメータの変化の効果が観測される。（頑健性試験の精度と比較して）有意な差があれば、その効果の大きさを測定するためにより詳細な試験が実施され、その結果に従って許容できる操作範囲が選ばれる。頑健性試験のデータは、重要なパラメータの影響に関する情報を提供する。

選択制/特異性 厳密な定義ではないが、どちらの用語も、必要とされる分析対象成分に対して、分

析法が限定的に応答する程度に関連している。選択制の典型的な試験では、ブランクと添加試料の両方に、妨害となりそうな要因を加えて応答を観察し、その効果を検討する。通常は、実際的な効果は有意ではないことを示すために、このデータが使われる。しかし、この試験では応答変化を直接測定しているため、妨害物の濃度が既知であれば、重要な妨害に伴う不確かさの推定に、この値を使うことが可能である。

3.2 分析法の性能の実験による検討

3.2.1 分析法バリデーション及び分析法性能試験の詳細な内容と実施方法については、広い範囲で述べられているので、ここではくり返さない。しかしながら、不確かさ推定に適用される研究の適切さに影響を与える基本原理は、このガイドラインに関連しているため、以下で考察する。

3.2.2 代表性は必須要件である。つまり、その試験法の適用範囲内の濃度範囲及び試料のタイプを含めるのみならず、通常の使用時に発生する影響の現実的な数及び範囲が可能な限り含まれるように、試験を実施しなくてはならない。精度実験において、要因が現実を表すように変化させられていれば、その要因の効果が観測された分散中に直接現れるため、分析法をさらに最適化する必要がなければ、それ以上の実験は必要ない。

3.2.3 この状況では代表的な変動とは、検討しているパラメータによる不確かさ推定に適切な範囲で、値が変化させねばならないという意味である。連続量のパラメータでは、許容範囲又は一定の不確かさとして示すことができる。試料のマトリクスのような不連続な要因では、許容できる又は分析法の通常の使用時に現れるマトリクスのタイプが範囲となる。代表性は値の区間だけではなく、分布にも適用されることに留意すべきである。

3.2.4 変動させるべき要因を選ぶ場合には、可能ならばより大きな影響要因が変動するようにすることが重要である。例えば、日間の変動が（おそらく再検量の影響により）併行精度に比べて実質的に大きいときには、2回の測定を5日間行う方が、5回測定を2日行うよりも、よい中間精度の推定値が得られる。十分な管理下にあることを条件とすれば、別々の日に1回ずつ測定を行うのでもよいが、日内の併行精度に関する情報は得られない。

3.2.5 一般に、系統的に変動させる方法よりもランダムな選択から得たデータの方が処理が容易である。例を挙げれば、十分な期間にわたってランダムな時に行われた実験には、室温の変化を表す効果が含まれるが、24時間毎に系統的に行われた実験には、作業日内の規則的な室温変化の影響によるかたよりが含まれているかもしれない。前者の実験では全体の標準偏差を評価するだけでよいが、後者では室温を系統的に変化させて、実際の温度分布を考慮に入れるような調整が必要である。しかし、ランダムな変動の効率は劣る。少数回の系統的な実験をすれば、効果の大きさが速やかに求められるが、20%以上の相対的正確さで不確かさの寄与を求めるためには、30回以上の測定が必要である。そのため、小数の主要要因を系統的に検討する方が好まれることが多い。

3.2.6 要因間の相互作用が分かっている、あるいは疑われるときには、その相互作用が考慮されていることの保証が重要である。相互作用する要因の異なるレベルをランダムに選択するか、分散と共分散の情報が得られるように注意して系統的計画を立てることにより、この目的を達成できる。

3.2.7 全体的偏りの試験をするときには、実際のルーチン試験試料に対して適当なタイプと値の標準試料を用いることが重要である。

3.2.8 ある効果の重要性を検討し試験するときには、その効果が現実に有意になる以前に検出できる十分な能力が必要である。

3.3 トレーサビリティ

3.3.1 ある分析結果と他の試験室の結果、あるいは同一の試験室で別の時に行った結果とを、信頼性をもって比較できることは重要である。これを達成するには、全ての試験室が、同一の測定尺度を使っているか、同じ参照点を持っていることを確実にする。多くの場合、一次国家標準または国際標準、理想的には測定のス I 単位系、につながる校正の連鎖を確立することで達成される。分析用天秤の例

はよく知られている。それぞれの天秤は標準分銅で校正され、標準分銅は最終的には国家標準に対して校正され、キログラム標準原器につながる。既知の標準値につながる、切れ目のない比較の連鎖が、共通の参照点への「トレーサビリティ」であり、これにより異なる操作者でも同一の測定単位を使用している保証となる。ルーチン測定では、1つの試験室（時）と別の試験室（時）の測定値の一致は、測定結果を得るあるいは管理するための全ての関連する中間的測定値について、トレーサビリティが確立していることにより、強く保証される。従って、測定の全ての分野において、トレーサビリティは重要な概念である。

3.3.2 トレーサビリティは正式には、次のように定義されている。

全ての段階で不確かさが明示された、切れ目のない比較の連鎖を通して、国家あるいは国際標準のような参照値に関連づけられる、測定結果あるいは標準の値の性質

それぞれの試験室でのトレーサビリティの連鎖が受けている不確かさにより、試験室間の一致には限界があることから、不確かさが言及されている。従って、トレーサビリティは不確かさと深くつながっている。トレーサビリティは全ての関係する測定結果を一定の測定尺度で位置づける手段を提供し、不確かさは連鎖の中の1つの結合の強さと、同一の測定を行った試験室間で期待される一致の程度を表す。

3.3.3 一般に、特定の標準にトレーサブルである結果の不確かさは、その標準の不確かさと標準に対する相対値の測定に伴う不確かさとを結合した物となる。

3.3.4 完全な分析操作の結果のトレーサビリティは、以下の手順を組み合わせて求められる。

1. トレーサブルな標準を用いて、測定装置を校正する。
2. 基準測定法を用いるか、基準測定法の結果と比較する。
3. 純物質の標準試料を使用する。
4. 適切なマトリクス認証標準試料を使用する。
5. 公認され、厳密に定義された手順を使用する。

以下、それぞれの手順について述べる。

3.3.5 測定装置の校正

いかなる場合も、使用する測定装置は、適切な標準にトレーサブルでなくてはならない。分析操作の定量段階は、しばしば、SI単位にトレーサブルな値が付された、純粋な物質の標準試料を用いて、校正される。これにより、全体のこの部分がSI単位にトレーサブルとなる。しかし、抽出やクリーンアップのような、定量に先立つ操作の結果のトレーサビリティを確立することも重要である。

3.3.6 基準分析法を用いた測定

現在、基準分析法は以下のように記述されている。

基準測定方法は、度量衡的に最高品質であって、その操作がSI単位によって完全に記述及び理解され、同じ量の標準を参照することなく受け入れられる方法である。

通常、基準分析法の結果は、SI単位に直接トレーサブルであり、この観点から、達成しうる最小の不確かさを有している。基準測定法は、国家測定研究所のみで実施され、ルーチン試験や校正での使用はまれである。適用可能であれば、試験あるいは校正法の結果と基準測定法の結果を直接比較することにより、基準測定法へのトレーサビリティが達成される。

3.3.7 純物質の標準試料(RM)の使用

純粋な物質、あるいは既知量の純粋な物質を含む試料の測定により、装置を校正するだけでなく、トレーサビリティを証明することもできる。例えば添加または標準添加法による。しかし、使用した標準と試験試料に対する測定系の応答の差の評価が、常に必要である。あいにく、多くの化学分析、特に添加法や標準添加法では、このような応答差の補正とその不確かさの両者が大きいことが多い。従って、原理的には結果のSIへのトレーサビリティが達成されるが、実際には、最も単純な場合を除いて、結果の不確かさは受け入れられないほど大きくなり、数値化すらできないこともある。不確かさが数値化できなければ、トレーサビリティも確立されない。

3.3.8 認証標準試料(CRM)の測定

認証値が付された、マトリクス CRM の測定結果との比較により、トレーサビリティが証明できる。適切なマトリクスの CRM が利用できる場合は、RM を使用するより、この方法の方が不確かさが小さくなる。CRM の値が SI にトレーサブルであれば、この測定により SI 単位へのトレーサビリティが与えられ、7.5 で議論する標準試料を利用すれば、不確かさも評価できる。

3.3.9 公認された方法による測定

一般に公認され厳密に定義された方法の使用でしか、十分な比較が行えないことがしばしばある。方法は入力パラメータの形式で定義される。例えば、特定の抽出時間の組み合わせ、粒子の大きさなどである。これらの入力パラメータの値が、通常の方法で、明らかな参照値にトレーサブルであれば、その測定方法を用いた結果もトレーサブルであると考えられる。結果の不確かさは、特定された入力パラメータの不確かさと、特定の不完全さ及び実施時の変動による不確かさ(7.8.1 参照)の両方から発生する。代替の方法の結果が、公認された方法の結果と比較可能ならば、2つの結果を比較することによって、公認された値へのトレーサビリティが達成される。

4. 測定の不確かさ見積もりの過程

4.1 不確かさの見積もりは、原理的には単純である。以下に、測定結果に伴う不確かさ推定値を得るために必要な作業をまとめた。次章からは、異なる状況に適用できる指針を示す。これは、分析法バリデーションから得たデータの使用、正式な不確かさ伝播法則の使用等に関連している。

ステップ1 測定量の特定

何が測定されるのかを、明快に記述する。測定量とそれが依存するパラメータ(測定される量、定数、校正の標準等)の関係も含める。可能ならば、既知の系統的効果の補正を含める。特定に関わる情報は、適切な標準作業手順(SOP)又は他の測定法記述から与えられるべきである。

ステップ2 不確かさの原因の同定

不確かさの原因として可能性のある物を列挙する。ステップ1で特定した関係のパラメータも含まれ、さらに他の原因も含まれうる。化学的な仮定に起因する原因も含めなければならない。付属書Dには、構造化したリスト作成の一般的手順が示されている。

ステップ3 不確かさ成分の数値化

同定された不確かさの原因それぞれに伴う不確かさ成分の大きさを、測定又は推定する。いくつかの別々の原因に伴う不確かさの寄与を、一度に測定又は推定できることもある。入手したデータが、不確かさの全ての原因を十分に説明しているかを考慮し、全ての不確かさの原因の十分な考慮が保証される追加実験の計画が重要である。

ステップ4 合成不確かさの計算

ステップ3で得た情報は、個々の要因であっても、複数の原因を結合であっても、数値で表した全体の不確かさへの寄与である。これらの寄与は、標準偏差の形式で表現され、適切な規則に従って合成されて、合成標準不確かさとなる。適当な包含係数を適用すると、拡張不確かさが得られる。

図1に、この過程を示した。

次章からは、上記のステップを実施する指針と、複数の原因を結合した効果について得られた情報に基づいて、簡略化する方法を示す。

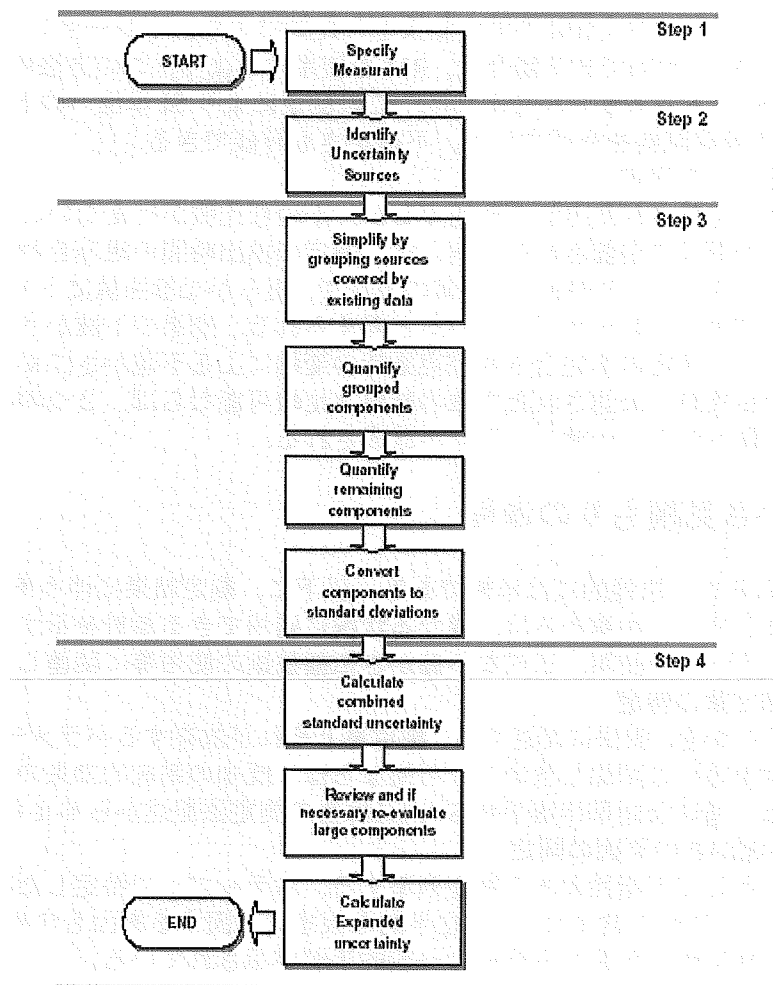


図1 不確かさ見積もりの過程

5. ステップ1 測定量の特定

5.1 不確かさ推定における「測定量の特定」では、何が測定量であるかを明確で曖昧さが無い様に述べると同時に、測定量と依存するパラメータの関連を定量的に述べなくてはならない。このようなパラメータとして、他の測定量、直接測定できない量、定数などがありうる。手順の中にサンプリング段階が含まれているかどうか、明らかにすべきである。含まれている場合には、サンプリングに伴う不確かさの推定値を、考慮する必要がある。これらの情報全てを、標準作業手順書(SOP)に記載すべきである。

5.2 分析測定においては、使用した分析法に依存しない結果を得ることを目指す測定と、そうではない測定を、明確に区別することが重要である。後者はしばしば、経験法と呼ばれる。以下の例で、論点がよりはっきりするだろう。

例

1. 通常、合金中のニッケル量を測定する多くの方法は、重量又はモル分率で表される同じ値が得られると期待されている。原則として、分析法のかたよりや、マトリクスによるかたより

は、全て補正される必要があるが、そのような効果は小さいと保証するのが通常である。結果と共に使用した分析法を引用することには、情報の目的以外の必要性はない。この分析法は経験法ではない。

2. 「抽出脂肪」の値は、特定された抽出条件によって大きく変わる。「抽出脂肪」は条件選択にもっぱら依存しているため、この方法は経験法である。測定量は使用した方法により定義されているから、方法固有のかたよりを補正しようとすることに意味はない。一般に、結果は方法を参照して報告され、方法固有のかたよりの補正は行わない。この分析法は経験法と考えられる。

3. 基質又はマトリクスの変動が大きく、影響を予想しがたい状況では、同一の試料を複数の試験室で分析した結果を同等にすることを唯一の目的とした、組織的な手順が開発されることが多い。この方法は、地方、国家、国際標準として受け入れられ、貿易その他の決定が行われるが、存在する測定対象の量の絶対的な値を得ることは意図されない。慣例として、分析法のかたよりやマトリクス効果の補正は（分析法開発において、それらの効果が最小にされているかどうかに関わらず）無視される。通常、結果はマトリクスまたは分析法のかたよりを補正せずに報告される。この分析法は経験法と考えられる。

5.3 経験法であるか非経験法（合理法と呼ばれることもある）であるかは、不確かさの推定に影響するため、両者の区別は重要である。上の例の2及び3では、慣例に従うと、いくつかの非常に大きな影響に伴う不確かさがあるため、通常の使用には適切ではない。従って、分析結果が、使用した分析法に依存しているかいないかに、相応の考慮を払い、報告する結果に適切な効果のみを、不確かさの推定に含めるべきである。

6. ステップ2 不確かさの原因の同定

6.1 不確かさの適切な原因のリストを作成すべきである。この段階では、個々の成分の定量化を考へる必要はない。考慮すべき事項を完全に明らかにすることが目的である。個々の原因を扱う最善の方法については、ステップ3で考慮する。

6.2 不確かさの原因のリスト作成では、中間的な値から測定量を計算するのに使う、基本的な式から始めると、便利な場合が多い。この式中の全てのパラメータはそれに伴う不確かさを持っており、それ故に、不確かさの原因となる可能性が高い。さらに、測定量の値を計算する式に明示的に現れないが、それでも測定結果に影響するパラメータがある。そのような例は、抽出時間や温度などである。これらも不確かさの原因となる可能性が高い。これら全ての原因を含めるべきである。

6.3 付属書Dに示した、原因と効果のダイアグラムは、不確かさの原因を列挙し、相互の関係を示し、結果の不確かさへの影響を指示する、非常に有用な手法である。要因を二重に数えてしまうことも避けられる。他の方法でも不確かさの原因リストの作成は可能だが、以下の章および付属書Aの例では、原因と効果のダイアグラムを使用する。補足的情報を、付属書C（分析操作の構造）及び付属書D（不確かさ原因の解析）、に示す。

6.4 不確かさの原因のリストを完成したら、個々の効果を式中のパラメータあるいは変数に付随させた測定モデルを定式化して、結果への効果を表すことが原理的に可能となる。この式は結果に影響する個々の要因全てを含めた、測定プロセスの完全なモデルとなる。この関数が非常に込み入ったものとなって、明確な形に書くのは不可能かもしれない。しかし、この式が個々の不確かさの寄与を結合する方法を決定するので、可能ならば必ず実行すべきである。

6.5 測定手順を、個別の操作（単位操作と呼ばれることがある）が連なったものとして捉え、それぞれの不確かさの推定値は個別に評価できるという考え方は有用である。類似した測定手順中に、共通の単位操作が含まれている場合には、特に有用なアプローチとなる。それぞれの操作の個別の不確かさを結合して、全体の不確かさが得られる。

6.6 実際的には、ある分析法について、適切な標準試料について観測される精度やかたよりのような、

分析法性能全体に伴う不確かさを考えるのが一般的である。概して、これらの寄与は不確かさ推定値の主要な部分であり、結果に対する効果としてうまくモデル化できる。可能性のある他の原因については、重要であるかをチェックすることだけが必要であり、重要であった場合にのみ定量化する。このようなアプローチに関する手引きは、特にバリデーションデータの使用について、7.2.1 で論じられる。

6.7 不確かさの典型的な原因

- ・ サンプルング
手順内に、試験室内あるいは外でのサンプルングが指示されている場合、異なる試料間のランダムな変動とサンプルング手順に伴う可能性のあるかたよりは、最終結果に伴う不確かさの成分となる。
- ・ 保存条件
試験開始前のある期間試験品が保存される場合は、保存条件が結果に影響するかもしれない。従って、保存期間並びに保存条件を、不確かさの原因として考えるべきである。
- ・ 機器の効果
天秤の校正の正確さの限界、温度制御装置によって一定に保たれた温度の設定温度からのずれ、オートアナライザーのキャリーオーバーのような、機器の効果を含めるべきである。
- ・ 試薬純度
定量分析操作に不確かさが伴うので、溶質を分析して容量試液のモル濃度を正確に知ることはできない。例えば、多くの有機色素の純度は100%ではなく、異性体や無機塩を含んでいる。通常このような物質の純度は、製造者により、特定のレベル以上と表示されている。純度をどのように仮定しても、不確かさの原因となる。
- ・ 科学量論仮定
分析過程がある化学量反応に従うと仮定した場合、その仮定からの逸脱、不完全な反応、副反応を考慮する必要があるだろう。
- ・ 測定条件
例えば、ガラス容量器を校正した温度とは異なる室温で使用することがある。大まかな温度の影響は補正されるが、液体及びガラスの温度にともなう不確かさを考えるべきである。同様に、湿度の変化に敏感な試料を扱うときには、湿度が重要となる。
- ・ 試料の効果
複雑な試料からの分析対象成分の回収率、または機器の応答は、マトリクスの組成に影響される。分析対象成分の特性により、この問題は一層複雑となる。
温度の状況および光の効果により、試料／分析対象成分の安定性は分析中にも変化する。
回収率推定に「添加」法を用いる場合、試料からの分析対象成分の回収率は、「添加」とは異なるかもしれない。これにより、評価を必要とする不確かさが加わる。
- ・ 計算の効果
検量モデルの選択、直線か曲線か、により当てはめが悪くなり、不確かさが大きくなる。切り捨てや丸めは、最終結果の不正確さに結びつく。これらが予測できることはまれであるが、不確かさの考慮は必要である。
- ・ ブランク補正
ブランク補正の値と方法の適切さ両方にも不確かさが存在する。痕跡分析では特に重要である。
- ・ 分析者の効果
目盛りの読みとりが、一貫して高いあるいは低い傾向を持つ可能性がある。
分析法の解釈がわずかに異なる可能性がある。
- ・ ランダム効果
全ての定量において、ランダム効果の寄与がある。当然、上記のリストにも含まれる。