

に対して、その分析を適用することによって概略定量を行うことができる。マトリックスブランクが入手できず、代わりに代表的な物質を使用する場合には、 b_{int} は相互マトリックス効果がないという仮定のもとに、非常に単純な実験から推定することができる。 b_{int} は、マトリックスが存在しない場合の方がもっと簡単に定量できることに注目すべきである。なぜなら、分析対象物質の感度自体が干渉物質によって影響を受ける場合(マトリックス効果)、その影響が他の種類の干渉物質と混同される可能性があるからである。

A3 検量線ならびに直線性

検量線において物質の調整段階での大きな誤差を除けば、検量線の誤差は普通(必ずしも常にとは限らないが)、不確かさは全体のなかで小さな部分を占め、また通常「トップダウン」方式で推定される各種のカテゴリーに確実に包含することができる。たとえば、検量線から生じる確率的誤差は、ランバイアスの一部なので全体として推定できるが、その一方でその原因から生じるシステム誤差は試験室バイアスとして現れることが多く、同様に全体として推定できる。しかしながら、検量線にいくつかの特徴があることを、分析法バリデーションの最初の段階から知っておくと便利である。その理由は、これらの特徴が分析手順を最適な方法で開発するための戦略に影響するからである。この範疇で問題となるのは、検量線が(a)うまく直線性になっているか、(b)原点を通過するか、(c)試料のマトリックスに影響されないか、といったことなどである。ここに述べる試験実施手順は、バリデーションにおける検量線の検討に関するものであり、これらは日常の分析で行われる検量線よりも正確さが必要である。たとえば、検量線が直線性で、原点を通ることがバリデーションで確立されると、それよりずっと簡単な検量線を日常分析に利用できる(たとえば、二点繰返し法)。この簡略化検量線によって生じる誤差は、通常バリデーション目的のものよりさらに高水準の誤差に包含されてしまうだろう。

A3.1 直線性ならびに切片

直線性は、適切な一連の検量線操作において、濃度に反応する直線回帰によって生じる残差のプロット図を調べることで非公式に検定することができる。残差のプロット図が曲線パターンを示せば、直線的でない検量線となるので、適合しないとわかる。有意性検定は、単純誤差に由来する直線性の欠如検定の変動値を比較することによって行うことができる。ただし、ある種の分析検量線に生じ易いことだが、非線形以外にも直線にならない原因があるので、有意性検定は残差プロット図と組み合わせて行わなければならない。適合の品質指標として現在広く使用されているにもかかわらず、相関係数は直線性の検定として誤りが多く不適當であるので、使用すべきではない。

非直線性とズレは混同しやすいので、直線性の欠如検定には、デザインが非常に

重要である。反復測定は、独自の推定値がなければ、単純誤差の推定値を示さなければならない。特別の指示がない場合、下記事項が適用される(単一変量線形検量線に)。

- 検量線標準試料は、6 点以上設けるべきである。
- 検量線標準試料は、適切な濃度範囲で、一定の間隔で均一に作製するべきである。
- 濃度範囲は、バリデートしたい濃度の 0%から 150%か、もしくは 50%から 150%のいずれかにする。
- 検量線標準試料は、ランダムな順番で、少なくとも 2 回、なるべくなら 3 回以上の反復測定を実行する必要がある。

単回帰分析を検量線データに適合させたときの残差プロットを作成して、残差の大きさに濃度依存性がないかどうか確認する。不均一分散は、分析の検量線は極めて普通のことで、それを示唆するパターンは、検量線データが加重回帰分析でうまく処理されていることを示している。これらの状況での加重回帰分析に失敗した場合、検量線データの低い方で拡大された誤差となって現れる可能性がある。

直線性の欠如検定は、単純回帰分析か、加重回帰分析かのいずれでも行うことができる。直線性の欠如が存在しない場合には、ゼロから著しく外れる切片検定も、このデータを使って実行することができる。

A3.2 一般的マトリックス効果試験

検量線標準試料を分析対象物質の単一溶液として調整できる場合、検量線操作は非常に単純化される。この方法を採用するなら、バリデーションの際、起こり得る一般的マトリックス不整合の影響を推定できるに違いない。一般的マトリックス効果の検定は、代表的な試料から得られる試験溶液に分析対象物質を添加する分析法(「標準添加」とも言う)を適用することで実行できる。試験は、通常の実験手順から得られる最終溶液と同じものを提供する方法で行わなければならない。また、添加範囲は、この分析法で定義された検量線のバリデーションと同じ範囲を含まなければならない。検量線が直線であるならば、通常の実験線の傾きと分析対象物質添加のプロット図の傾きから、有意性に違いがあるかないか比較できる。有意性がないということは、検出できる一般的マトリックス効果がないことを意味する。検量線が直線でない場合には、有意性検定のために、それよりさらに複雑な分析法が必要となるが、同じ濃度での目視による比較で通常は十分である。この試験に有意性がなければ、マトリックス変動効果(A13 章)もまたないであろうということを意味することが多い。

A3.3 最終検量線手順

分析手順において仕様通り行う検量線操作は、含まれる誤差が総合評価の不確かさに寄与するにもかかわらず、個別にバリデーションを行う必要がある。ここで重要な点は、直線性などに対する特定の設計から推定された不確かさは、分析実施手順書に規定されたもっと単純な検量線から生じる不確かさより小さいと考えられることである。

A4 真度

A4.1 真度の測定

真度とは、試験結果と測定により求められた参照値(認証値)との間が、どれだけ一致しているかということである。真度は定量的にバイアスという言葉で表現され、より小さなバイアスがより大きな真度を示す。バイアスは、既知の値を含む標準物質を試験方法に応じて代表的に測定される。統計上の有意性をテストすることを推奨する。基準値の不確かさを無視できない場合、試験結果の評価は統計上の可変性はもとより、標準物質の不確かさを考慮しなければならない。

A4.2 真度の試験条件

バイアスは、分析システムの異なった段階で派生する。たとえば、ランバイアス、試験室バイアス、分析法バイアスである。いくつかの試験法でバイアス検討を行う際に、これらのなかのどのバイアスを扱うかを忘れないでいることは重要なことである。

特に：

- 一回のラン内で導き出される標準物質の一連の分析平均値は、その特定のランに対する影響、分析法の影響や試験室の影響、ランの影響全体についての情報を与える。ランの影響は、ランからランまで特にこれといった規則がないと推定されるが、その結果は目に見える分散結果から予想される以上にランからランで変化するだろう。それで、このランの影響を結果の測定において考慮に入れる必要がある。(たとえば、いくつかのランで単独に調査した標準偏差に対して測定したバイアスの調査である)。
- 複数のランで行う標準物質の反復分析の平均値は、特定の試験室における分析法バイアスと試験室バイアスの複合効果を与える(その値が特別な分析法を使用するように指定する場合を除いて)。

A4.3 真度の測定に対する標準値

A4.3.1 認証標準物質 (CRM)

認証標準物質 (CRM) は、既知の不確かさを持つ国際標準に由来しており、マトリックスに不整合がないということを想定していることから、バイアスのあらゆる面 (分析法、試験室間及び試験室内バイアス) を同時に定める時に用いることができる。

認証標準物質は真度を確認することが必要な場合に、そのバリデーションに使用すべきである。十分小さいバイアスの量を検出することができるまで、不確かさの値を保証することは重要である。認証値が小さくない場合、認証標準物質の使用は推奨されるが、追加試験を実施する必要がある。

代表的な真度の測定は、標準物質より意味のある答 (平均値) を生み出す。試験結果を説明する際に、認証値に伴う不確かさは、試験室のバリデーションの統計値から生じる不確かさと一緒に考慮しなければいけない。後者の条件は、ラン内、ラン間、あるいは意図した試験室間の共同試験より算出された標準偏差の推定値を基礎として差し支えない。認証値の不確かさが小さい場合、student t 試験は、特定の精度評価条件を利用して、一般的に導き出される。必要で実行可能なら、適切なマトリックスで分析対象濃度を備えた多数の認証標準物質を試験すべきである。多数の認証標準物質を試験した場合、認証値に関する不確かさは、分析結果の不確かさより小さいことから、試験結果を評価する単回帰分析を使用することが信頼できるのは妥当である。このように、バイアスは濃度の関数として表わすことができ、また、ゼロ以外の妨害 (在来バイアス、もしくは定数バイアス) として、あるいは非結合性傾き (循環バイアス、もしくは比例バイアス) として現れる可能性がある。マトリックス範囲が大きい場合は、その結果を解説する際、十分に注意する必要がある。

A4.3.2 標準物質

認証標準物質が入手できない、もしくは添加用の認証標準物質が入手できない場合、使用する標準物質は使用目的に十分に合致していれば、いかなる物質からでも作ることができる (標準物質 [10] 参照)。非有効なバイアスはゼロバイアスの証明にならないが、いかなる物質の有効なバイアスでも調査の要因となることを常に心に留めておくことである。標準物質の例は次のものを含む: 標準物質の認証手順によって認証された物質、ただし、その値に不確かな申告、あるいはそれ以外の認定申告 (認定値) が伴わないもの。標準物質の製造業者により認証された物質。標準物質として使用する試験室が認証した物質。限定的な連続練習を条件とした物質。もしくは技能試験で分類した物質。これらの物質のトレーサビリティに疑問がある場合であっても、バイアスの評価をまったくしないより、それらを使用することのほうがずっと良い。これらの物質は認証標準物質とほぼ同じ方法で、不確かさを定めるための重要な試験に基づか

ない、観察可能な精度管理結果を導き出す試験に使用される。

A4.3.3 標準分析法の使用

標準分析法は、原則として別の分析法のバイアスを求めるためのバリデーション試験に使用できる。標準分析法は、すでに試験室でバリデートされ、試験室で使用している標準分析法及び試験方法を修正した際の確認に利用できる。その2つの分析法は、代表的な多くの試料を分析するのに用いられるが、むしろ有効な濃度範囲をかなり均一にカバーできる。統計処理可能な範囲を超える試験結果を比較することで、分析法と分析法の間のどんなバイアスでも示すことができる。(たとえば、変動値と平均値の同質性に対する正当なチェックを伴う paired *t*-検定)

A4.3.4 添加／回収率の使用

標準物質あるいは標準物質の調査法の裏付けがない場合、バイアスは添加回収率で調査できる。代表的な試料の分析は、無添加と既知の分析対象物質をそれに添加したものの両方を分析することである。標準品の添加量の相違により、サロゲート回収または定量限界回収と呼ばれる。回収率は、バイアスが分析法に影響を及ぼしていることを併せて示すことと大きく異なる。厳密に言えば、ここで解説するような回収試験は、標準添加した分析対象物質を分析することに起因するバイアスを評価するものであり、添加の影響はその元の分析対象物質に当てはまるが、同じ影響が必ずしも元の分析対象物質の範囲(試料の種類)に当てはまるとは限らない。添加回収試験の最重要な観察の条件として、適切な回収率が真度の保証とはならないが、不完全な回収率は間違いなく真度が欠けていることを示している。添加回収データを取り扱う分析法は、他のところで詳細に扱っている[4]。

A5. 精度

精度は、規定通りの条件で得られたそれぞれの試験結果の間で、どれだけ近く一致しているかを表すものである。それは普通、標準偏差、もしくは相対標準偏差で表される。精度とバイアスの差異は観念的なことであるが、分析システムを見つめる視点の位置に基づく。そのため、単なる定量分析の視点で見れば、検量線に影響を及ぼすどんなバラツキでもバイアスとしてみなされるだろう。長年経験している分析者の視点から見れば、ランバイアスは毎日異なるし、精度に関わるランダム変数のように挙動する。精度測定の場合の規定条件は、その見地に立った変化を考慮に入れている。

単一試験室バリデーションの場合、次の2つの条件が適切である：(a) 繰返し条件

下の精度は、1つのランで予想値0と標準偏差 σ_r としたとき観察される変動値を示す。また(b)ランとランの間の精度は、予想値0、標準偏差 σ_{run} としたときのランバイアス δ_{run} における変動値を示す。通常、これら2つの誤差は、それぞれの分析結果に影響しており、そのためそれらが組合わさった精度は、 $\sigma_{tot}=(\sigma_r^2/n+\sigma_{run}^2)^{1/2}$ となる。 n とは、1つのランにおける繰返し数である。その2つの精度の推定は、一連の連続したラン中に特定の試料を二重分析することでたいいてい得ることができる。それから個々の分散値が、一元分散分析を用いて算出される。各二重分析は、別々の試料を用いた独立した操作でなければならない。その代わりに、結合精度 σ_{tot} は、連続ランごと一回試料を分析し、通常用いられる数式から標準偏差を計算することにより、直接見積もることができる。(そのとき得られる標準偏差を一般に記号 s と示し、母標準偏差 σ とは区別することに注意しなさい)。

精度の値が、適切な試験条件での結果として表されることが重要である。第一に、ランの間の条件変動は、試験室の日常検査/ルーチン分析において、いつも起こるものをしてなければならない。たとえば、一回分の試薬量、分析者、ならびに装置の変動が考慮されることが望ましい。第二に使用される試料は、マトリクスと(理想的には)粉末の状態、日常検査/ルーチン分析において遭遇すると考えられる試料の状態に関して、それらを代表するものであることが望ましい。そのため、実際の試料、あるいはそれより少ない程度のほうが、マトリクスに合った標準試料はふさわしいが、分析対象物質の標準溶液はふさわしくない。認証標準物質、ならびに調合された標準物質は、代表的な試料よりかなりの程度均質化していることがしばしばである。従って、それらの分析から得られた精度は、試料の変動を過小評価するかもしれない。

精度は、分析対象物質濃度で何度も変化する。典型的な前提条件は、(i)分析対象物質濃度での精度に変化はないということ、あるいは(ii)標準偏差は分析対象物質濃度に比例するか、もしくは濃度と直線関係にある。両方の場合において、分析対象物質濃度が実質的に変化すると予想される場合、その前提条件は確かめる必要がある(すなわち、その中央値から約30%以上だけ)。もともと経済的な試験は、濃度範囲の両端かその近傍において、適当な統計的バラツキ試験による簡単な精度調査であると考えられる。F-検定が、正規分布の誤差には適している。

精度データは、ここに示した最低限の併行、日間条件に加え、広い範囲の異なる条件で採取したほうがよく、次の情報が得られるかもしれない。たとえば、分析結果の評価のとき、測定法の改良のため、異なる操作者やラン効果、日間変動、日内変動、複数の装置を使う時の精度などの情報を得るのに有用かもしれない。各種の異なる計画や統計的な解析法が利用できるこのような試験には、注意深い試験計画が強く推奨される。

A6. 回収

回収を見積もる方法は、真度(上記)のところで同時に議論した。

A7. 範囲

バリデートされた分析法の範囲とは、分析対象物質濃度の間隔であり、その範囲内で分析法がバリデートされたとみなすことができる。このバリデートされた範囲は必ずしも検量線の有効範囲と全く同じとは限らない。検量線は広範な濃度範囲を含むことになるが、バリデーションのその部分(不確かさに関して普通よりもっと多くの重要な部分)は、さらに限定された範囲を扱う。実際に、分析法のほとんどは1レベルか2レベルの濃度でバリデートされることになる。そのバリデートされた範囲は、これらの点から合理的に外挿して採用されるかもしれない。

分析法が検出限界よりかなり上の適当な濃度に焦点を当て使用される場合、棄却値付近のバリデーションが適当である。分析対象物質の他の濃度に対し、この結果を外挿して当てはめることはできない。それは多くのことが個々の分析システムに基づいているからである。そのため、バリデーションの報告は、バリデーションを行う者が、専門的判断で、推定不確かさを有効であると評価する際の、許容値付近の範囲を正確に示す必要がある。

注目の濃度範囲がゼロ、あるいは検出限界に近づく場合、絶対不確かさ、あるいは相対不確かさのどちらかを想定することは正しくない。この共通の状況における有効な見積もりは、不確かさ u と濃度 c の間でプラスの切片を持つ一次直線を想定することである。すなわち、数式は次のようになる。

$$u(c) = u_0 + \theta c$$

θ は、限界検出をはるかに超えるある濃度で推定された相対不確かさである。 u_0 は、濃度ゼロのときに推定された標準不確かさである。状況によっては、 $c_L/3$ として推定できる。このような状況では、バリデーション範囲をゼロからそれよりさらに高いバリデーション点の小さい整数倍数までの拡大としてみなすことが妥当であろう。また、これは専門的な判断によることになるだろう。

A8. 検出限界

検出限界(検出の限界)は、広義には、確実にゼロと区別できる試料中の分析対象物質の最小量、もしくは最小濃度である[22, 23]。分析システムで、バリデーション範囲がゼロを含まない、あるいはゼロに近づく場合、検出限界はバリデーションの一部である必要はない。この明確な簡単な考えにもかかわらず、検出限界という項目全体には、以下に略述する問題がつきまとう。

- この項目には複数の実行可能な概念上の取り組み方があり、それぞれの取り組みは、検出限界の幾分異なる使用法を提示する。その問題を解明しようとするれば、ますます混乱をきたすように思われる。

- これらの取り組みのそれぞれは、ゼロ濃度付近の精度の推定によるものであるが、推定のために繰返し試験を提示しているのか、他の条件を意味するとみなす必要があるかどうか明らかではない。
- 膨大な量のデータが集められない限り、検出限界の推定は巨大なランダム分散になるであろう。
- 検出限界の推定はしばしば操作上の要素によって、低い側に偏ってしまう。
- 検出限界に関連する統計的推論は、正規分布を前提としていて、少なくとも低濃度域では問題がある。

分析法バリデーションの最も実用的な目的の場合、簡単な定義を選ぶほうが良いように思える。その簡単な定義なら、即座に素早い推定値を出すことができ、およその指針としてその分析法に役立つことになる。ただし、分析法開発においての推定検出限界は、確立した分析法に具体化される検出限界とは概念的にも数値的にも同一ではないと考えなければならない。たとえば、文献や分析装置パンフレットに引用され、希釈溶液の調整に使われる「分析装置の検出限界」は、現実の検出限界よりはるかに小さい値であり、分析法バリデーションには不適當である。

従って、分析法バリデーションでは、マトリックスブランクもしくは低濃度試料中の分析対象物質濃度を、少なくとも 6 回全操作測定し、ゼロや負の結果を削除せずに、 S_0 を用いる精度推定により求めるべきである。それで、推定検出限界は $3S_0$ として算出される。注) 推奨されている自由度の最小値を用いたこの数値は、まったく根拠のないもので、容易に 2 を掛けるという誤りを犯すかもしれない。より厳密な推定が必要な(試料中の検出などを判断するなど)場合、参考文献を手引きとすることが望ましい(参考文献、22-23 参照)。

A9. 定量限界

定量限界は、適切な精確さをもって定量できる分析種の最低量または最小濃度と定義される。精度は、RSD 10%として任意に決められるときもあれば、定量限界が検出限界の一定の倍数(代表的なものは 2 である)として同じように任意に選ばれるときもある。それは、これらの濃度を境に定量できるか出来ないか二分するのはまったく人為的なものである。そのような定量限界以下の分析値が濃度を示さないわけでもなく、また目的に十分適合しているかもしれない。それゆえ、このような限界値をバリデーションに使用することは、ここでは推奨しない。それよりも不確かさ濃度による関数を求めることが望ましく、この関数を試験室、クライアント、分析結果の利用者の目的に適合した基準と比較することにより分析可能な濃度範囲を明らかにする。

A10. 感度

分析法の感度は、検量線の傾きで表す。通常これは、分析機器の設定に依存した任意性のある特性であるため、バリデーションには有用ではない。(品質保証には有用な指標であろう。ただし、分析機器が設計どおりの性能で機能しているかどうか試験することである)。

A11. 頑健性

分析法の頑健性とは、分析実施手順書に記載した実験条件を多少変更したとき、分析法の測定結果が影響されない性能を示す。実験パラメーターの許容範囲は、分析実施手順書(プロトコル)に記載する必要がある(このことは、過去に決まっていたわけではなく)、また別々にあるいはいかなる組み合わせにおいても、そのような許容範囲は、分析結果に重要な影響を及ぼさないように求める必要がある。(ここで言う「重要な影響」とは、分析法が目的に適合した不確かさの範囲を超えて機能できないことを意味している)。分析値に影響を及ぼしそうな要因を特定し、頑健性試験を用いて推定する分析性能に影響を及ぼす要因を特定する必要がある。

分析法の頑健性試験は、実施手順を意図的に少し変動させ、分析結果に及ぼす影響を調べることである。おそらくさまざまな分析法を検討しなければならないが、どの程度の範囲ならばその中心的条件から逸脱が認められるかを示すことが出来、柔軟性の高い試験法ができる。経済的な実験として、Youden は一部実施要因計画を紹介している[13]。たとえば、7個の変動要因を組み合わせた8回の実験結果から調査することができる。それは、8回の実験結果から7個の変動要因の影響を調査できる。室間共同試験のプロトコルでも、単一試験において行っておく必要がある。

頑健性試験における変動要因は、たとえば次のようなものである。分析機器、分析者、もしくは試薬のメーカーの違い。試薬の濃度、溶液のpH、反応温度、反応時間等が挙げられる。

A12. 目的適合性

目的適合性とは、ある分析法の性能が標準に適合し、分析者と分析結果の利用者間が合意した規準への適合性の度合いを示す。たとえば、データ誤差は、判断を誤らせるほど大きくてはならないが、結果の利用者に不必要な費用を負担させるほど、その誤差があまりにも小さくてもいけない。目的適合性の規準は、本文書付録に記載したいくつかの性能特性に基づくが、最終的には変動要因ごとの合成不確かさで表されるだろう。

A13. マトリックスによる変動

多くのセクターにおけるマトリックス変動値は、分析測定での誤差の要因として最も重要で、最も認知されなかったものの 1 つである。数ある他の試験材料の中で、マトリックス試料を特定して確認する分析システムを判定する場合、限定した種類の中で変動値にかなりの範囲があるかもしれない。極端な例を引用すれば、「土壌」という種類のサンプルは、粘土、砂、白墨、ラテライト(紅土)(おもに Fe_2O_3 、ならびに Al_2O_3)、泥炭等々、もしくはそれらの混合物から構成できる。これら種類のそれぞれのタイプが、原子吸光分析装置のような分析法に、独特のマトリックス効果を及ぼす一因となる。分析する土壌のタイプについての情報がなければ、この変動マトリックス効果のために、その分析結果に特別な不確かさがあるだろう。

マトリックスによる変動の不確かさは、個別に定量する必要がある。なぜなら、それらは分析法のバリデーションの過程以外では検討されないからである。その情報は、該当する範囲の分析濃度を使ってすべて、限定した種類の中で想定される代表的なマトリックス群を得ることができる。試料は、実施手順書に従って分析し、結果のかたよりを推定される。ただし、試料が認証標準物質でなければ、かたよりの推定は、添加回収試験の方法によって行わなければならないだろう。不確かさは、かたよりの標準偏差で推定される。(注意:この推定値はまた、反復分析から分散の和の平方根を含むであろう。これは、添加が使用されていた場合、大きさ 2σ $2r$ を持つことになる。厳密な不確かさの集まりが求められる場合、二重に説明することを避けるために、マトリックスによる変動の分散から想定できるだろう)。

14. 測定の不確かさ

測定の不確かさを推定するには、方程式、あるいは数学モデルで計算して求めるのが公式的な取り組みとされている。分析法バリデーションを解説する実施手順書で試験結果を推定するのに用いる方程式は、あらゆる種類の確率的誤差(ランダム誤差)を十分許容し、結果に対し公認の有意な影響をすべてまとめる有効な数式であることを保証するように設計されている。以下でさらに念入りに補足説明をするなら、その方程式、すなわちバリデーションを条件とする「数学モデル」は、直接に測定の不確かさを推定するために使用できるということなのである。

これは、「不確かさの伝播則」に基づいて、以下に挙げるすでに確立された原理に従って求められる。独立している入力(データ)の影響は、次の数式となる。

$$u[y(\chi_1, \chi_2, \dots)] = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(\chi_i)^2}$$

$y(\chi_1, \chi_2, \dots, \chi_n)$ は、複数の独立変動値 χ_1, χ_2, \dots の関数であり、 c_i は χ_i に関する y の偏

微分 $c_i = \partial y / \partial x_i$ で求められる感度係数である。 $u(x_i)$ と $u(y)$ は標準不確かさ、つまり標準偏差の数式で示された測定の不確かさである。 $u[y(x_1, x_2, \dots)]$ は、複数の別々の不確かさの推定値の関数であるため、合成標準不確かさと呼ばれる。

測定結果を計算するのに用いる方程式 $y = f(x_1, x_2, \dots)$ から測定の不確かさを推定するには、第一に x_1, x_2 などの各々の条件の不確かさ $u(x_i)$ を明らかにすること、第二にそれらを、バリデーションの際に見つけたランダム影響因子を示すのに必要な追加条件と結びつけること、最後にあらゆる追加効果も考慮に入れることが必要である。上記に述べた精度に関する問題について、状況から推定される統計モデルは、次の数式で表される。

$$y = f(x_1, x_2, \dots) + \delta_{\text{run}} + e$$

e は、特定結果に対する確率誤差となる。精度試験から δ_{run} と e が、それぞれ標準偏差 σ_{run} と σ_e を持っていることがわかっているため、これら後者の条件（または厳密に言うところ、それらの推定値 s_{run} と s_e ）は、その追加条件と関連した不確かさである。個々の同時分析内の結果は平均されるが、これら 2 つの条件に関連した合成不確かさは、（前述したが） $s_{\text{tot}} = (s_e^2/n + s_{\text{run}}^2)^{1/2}$ である。ここで留意すべきは、精度条件が分析対象物質レベルによって異なることが証明されているため、得られた結果に対する不確かさの推定は、そのレベルに対応する精度条件を用いなければならないということである。従って、不確かさの推定原則は、分析法のバリデーションのなかで予測、また試験された統計モデルに直接付随する。この推定値には、特に不均性とマトリクス効果の説明において、必要に応じてさらなる条件を加えなければならない（付録 A13 を参照）。最後に、算出された標準不確かさに「包含係数」 k を乗じて得られるのが拡張不確かさであり、それはつまり「値の分布の大部分を包含すると予測される区間は、測定量に起因すると考えられる」のである[8]。統計モデルが完全に確立され、分布も正常で推定値に関連した自由度数が高ければ、一般に k は 2 となり、そのとき拡張不確かさは、近似値 95% の信頼区間に相当する。

ここで付け加えるべき重要な補足説明が一つある。それは、推定される統計モデルを試験する際、やむを得ず不完全な試験が用いられるということなのである。すでに前述したことだが、これらの試験からいかなる影響も同じようにゼロであることは証明できない。つまり、これらの試験で証明できるのは、影響が小さすぎて、特定の試験の有意性に関連した不確かさの範囲内で検出できない、ということだけである。特に重要な例は、試験室バイアスの有意性試験である。明らかに、これが真度を確かめるために行う唯一の試験であるなら、その分析法にバイアスがまったくないかどうかに関する残差不確かさがいくつかあるにちがいない。そのような不確かさが今まで算出した不確かさに関して有意である場合、さらなる許容量を考えるべきである。

基準値が不確かな場合、最も単純な許容量は、行なった試験の統計的不確かさと組み合わせられた試料に規定された不確かさである。それに関して詳しく述べることは、本文書の目的を超えているので、それ以上の詳細については、参考文献 9 を参照のこと。

ただし、想定した統計モデルから直接推定した不確かさは、分析結果と関連づけられる最低限度の不確かさであるが、それはほぼ間違いなく過小評価されるということに注意を払うことが肝要である。同様に、同じ要件に基づく拡張不確かさと $k=2$ を用いても、十分な信頼性を提供できないだろう。

ISO ガイドライン [8] の項では、信頼性を高めるために、条件を勝手に加えるのではなく、むしろ必要に応じて k 値を増加させることを推奨している。実際の試験から、次のようなことが示唆される。バリデートされた統計モデルに基づく不確かさの推定値で、その統計モデルに信頼性があると提示できるような分析法バリデーション検証の証拠がない場合、 k は 3 未満であってはいけないということなのである。そのバリデーション検証が広範囲に行なわれたことを疑う強固な理由がある場合、 k 値は必要に応じてさらに増加させるべきである。

付録 B. バリデーション試験の不確かさの推定に関する追加的要件

B1. 検出感度分析

不確かさの測定に用いられる基本式。

$$u[y(x_1, x_2, \dots)] = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2}$$

不確かさの推定値に用いられる基本式は、「感度係数」 c_i を必要とする。不確かさの推定値で一般によく見られることに、与えられた影響因子 x_i は、既知の不確かさ $u(x_i)$ を持っているが、一方感度係数 c_i は特徴づけるのに不十分か、または方程式の結果から簡単に得ることはできないということがある。これは特に一般的なことで、その場合、影響は測定方程式に含まれない。その理由は、それが通常有意ではないためか、あるいは修正を正しいと判断するまでにその関係性が十分に理解されていないためである。たとえば、室内温度上の溶解温度の影響 T_{sol} の抽出手順が、項目ごとに立証されていることはまれである。

そのような影響と関係している結果の不確かさを推定したいと思う場合、試験的に係数を測定することは可能である。これは、頑健性試験とよく似た方法で、 x_i を変えて、その結果の影響を観察することでたいがい簡単に行える。ほとんどの場合、まず第一にごくわずかな値ではなく、最大の値を示す x_i を二つ選び、観察結果からおおよそその変化度を算出することで十分である。すると、変化度は、感度係数 c_i の近似値を示す。その結果、条件 $c_i \cdot u(x_i)$ を決定できる。(ここで留意すべきは、これは有意性を証明する、または試験結果に起こり得る影響を証明する実用的な分析法の一つであるということである)。

このような試験では、観察結果における変化は、信頼できる感度係数 c_i を算出するのに十分有意であるということが重要である。このことをあらかじめ予想することはむずかしい。ただし、指定された影響量 x_i の許容範囲、または量の拡張不確かさで、それが非有意性変化と予想できるときは、 c_i をそれよりさらに大きな範囲から測定することが重要なことは明らかである。従って、予想される範囲 $\pm a$ を持つ影響量の場合(たとえば $\pm a$ は、許容範囲、拡張不確かさ区間、または 95% の信頼区間であるかもしれない)、感度検出試験は可能ならば、信頼性のある結果を得るには、少なくとも $4a$ の変化を用いることを推奨する。

B2. 判定

一般的に、ある影響が認められ、有意性があるかもかもしれないとき、必ずしも信頼できる不確かさの推定値を得られるとは限らない。そのような場合、ISO のガイドラインは、不確かさを無視するより、専門的によく考えた不確かさの推定の方を選ぶことを明確にしている。その結果、もしかして重大な影響のある不確かさの推定値が見いだせない場合、分析者は起こり得る分析の不確かさを自己判断で最上の判定を下し、それを合成不確かさの推定に適用させる必要がある。参考文献 8 は、不確かさの推定値の判断を下すためのさらなるガイダンスとなるであろう。

参考文献

1. W. Horwitz. "Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies", *Pure Appl. Chem.* **60**, 855, 864 (1988); revised version: W. Horwitz. *Pure Appl. Chem.* **67**, 331-343 (1995).
2. M. Thompson and R. Wood. "The international harmonised protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories", *Pure Appl. Chem.* **65**, 2123-2144 (1993). (Also published in *J. AOAC Int.* **76**, 926-940 (1993).
3. M. Thompson and R. Wood. "Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories", *Pure Appl. Chem.* **67** (4), 49-56 (1995).
4. M. Thompson, S. Ellison, A. Fajgelj, P. Willetts, R. Wood. "Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement", *Pure Appl. Chem.* **71** (2), 337-348 (1999).
5. *Council Directive 93/99/EEC on the Subject of Additional Measures Concerning the Official Control of Foodstuffs*, O. J., L290 (1993).
6. *Procedural Manual of the Codex Alimentarius Commission*, 10th ed., FAO, Rome, 1997.
7. *Precision of Test Methods*, Geneva, ISO 5725 (1994). Previous editions were issued in 1981 and 1986.
8. *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, ISO, Geneva (1993).
9. A. Williams, S. L. R. Ellison, M. Roesslein (Eds.). *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2nd ed. (English) (2000), ISBN 0-948926-1595, available from LCC Limited, Teddington, London, or at Eurachem Secretariat, <http://www.eurachem.org/>.
10. *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology*, ISO, Geneva (1993)
11. *Validation of Chemical Analytical Methods*, NMKL Secretariat, Finland, NMKL Procedure No. 4. (1996).

12. "EURACHEM Guide: The fitness for purpose of analytical methods. A Laboratory Guide to method validation and related topics", LGC, Teddington 1996. Also available from the EURACHEM Secretariat and Web site.
13. *Statistics Manual of the AOAC*, AOAC International, Gaithersburg, MD (1975).
14. *An Interlaboratory Analytical Method Validation Short Course developed by the AOAC INTERNATIONAL*, AOAC International, Gaithersburg, MD (1996).
15. "Text on validation of analytical procedures" International Conference on Harmonisation. Federal Register, Vol.60, p.11260, March 1 (1995)
16. "Validation of analytical procedures: Methodology", International Conference on Harmonisation. Federal Register, Vol. 62, No. 96, pp.27463-27467, May 19 (1997).
17. "Validation of methods", Inspectorate for Health Protection, Rijswijk, The Netherlands, Report 95-001.
18. *A Protocol for Analytical Quality Assurance in Public Analysts' Laboratories*, Association of Public Analysts, 342 Coleford Road, Sheffield S9 5PH, UK (1986).
19. "Validation of analytical methods for food control", Report of a Joint FAO/IAEA Expert Consultation, December 1997, FAO Food and Nutrition Paper No. 68, FAO, Rome (1998).
20. "Estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis", NMKL Secretariat, Finland, NMKL Procedure No. 5 (1997).
21. M. Thompson and P.J. Lowthian. *JAOAC Int.* **80**, 676-679 (1997).
22. "Nomenclature in evaluation of analytical methods, including quantification and detection capabilities", IUPAC Recommendation, *Pure Appl. Chem.* **67**, 1699-1723 (1995)
23. ISO 11843. "Capability of detection", (several parts), International Standards Organisation, Geneva.
24. M. Thompson. *Analyst* **125**, 2020-2025 (2000).
25. M. Thompson. "Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing", *Analyst* **125**, 385-386 (2000).
26. "How to combine proficiency test results with your own uncertainty estimate—the zeta score", Analytical Methods Committee of the Royal Society of Chemistry, AMC Technical Briefs No. 2, M. Thompson (Ed.), www.rsc.org/lap/rsccom/amc

平成 18 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保研究事業）
食品安全施策等に関する国際協調のあり方に関する研究

分担研究報告書（平成 18 年度）

「国際規格における分析サンプリング法の制定に関する研究」

—食品衛生検査の試験所における内部精度管理のあり方について—

主任研究者 玉木 武 (社)日本食品衛生協会理事長 食品衛生研究所長
分担研究者 松木 容彦 (社)日本食品衛生協会食品衛生研究所副所長
研究協力者 杉本 敏明 (財)日本食品分析センター 衛生化学部部長
丹野 憲二 (財)日本食品分析センター専務理事

研究要旨

試験所の内部精度管理に関する国際的な共通化ガイドラインに記載されている内部精度管理手法の中から二重分析(短い時間間隔の中で試料を 2 回分析すること)による管理手法を取り上げて、2つの測定値の差を指標とする内部精度管理の適用性を調査した。

ある試料を 2 回ずつ繰り返して分析データを収集し、2つの測定値の差の挙動について統計的に解析した結果、当該管理手法は試験系に発生した異常を正しく検知できる客観的手段と成り得ることが示唆された。ただし、実用性を考慮すると、同一の管理基準を適用できる試料種及び濃度の範囲等について、更なる検討が必要であると考えられた。

A. 研究目的

食品の国際規格は、コーデックス委員会(CAC)において制定されている。また、食品分析法に関する共通事項については、主にコーデックス分析・サンプリング法部会(CCMAS)が検討の場となっている。CACでは1997年に食品分析試験所の能力評価に関するガイドライン(CAC/GL27)¹⁾が採択されており、このガイドラインの中で分析試験所の能力評価の要件として求められる事項の一つとして内部精度管理(Internal Quality Control)を導入していること(Use internal quality control procedures, such as those described in the

“Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, Pure & Appl. Chem. 67 (1995) 649-666.)が挙げられている。したがって、食品衛生検査の試験所がこのガイドラインに基づく内部精度管理を適用することは、“国際的に通用する”という観点から報告した分析結果の評価を高める効果が期待される。しかしながら、CAC/GL27で引用されている試験所の内部精度管理に関するガイドラインは外部国際機関(IUPAC, ISO及びAOACI)で制定された共通化ガイドライン²⁾であり、種々の食品検体について幅広い検査を行う食品分析現場の実態に適して

いるのかという点については具体的な適用性検討を行う余地が残されていると考える。そこで、本共通化ガイドラインで推奨されている内部精度管理手法の食品衛生検査への適用を評価する目的で、実試料分析値のばらつきを用いた精度管理手法について試験的にデータ収集を行い、食品分析現場で運用するにはどのような管理設計が可能かを検討し、合わせて実用面の問題点についても考察した。

B. 研究方法

B.1 内部精度管理の共通化ガイドライン

CAC/GL27 に引用されている試験所の内部精度管理に関する IUPAC, ISO, AOAC 共通化ガイドラインでは、各試験所での分析試験の実施状況を以下の 4 つのパターンに場合分けして推奨される内部精度管理手法(の組合せ)が記述されている。

- i) 測定成分を類似濃度含有する少数の類似試料を分析している場合
- ii) 測定成分を類似濃度含有する多数の類似試料を分析している場合
- iii) 測定成分を異なる濃度含有する少数(又は多数)の類似試料を分析している場合
- ix) 測定成分も試料の種類も含有濃度も一定しない、その都度異なる分析を行っている場合

上記のうち、i)~iii)は“類似試料の同一成分を分析している”という点で共通であり、これらの場合には、

- ① 試料を分析する際に、合わせて管理試料(測定成分含量が既知の試料: Control Material)を分析する。
- ② 実試料の一部(無作為抽出)について

2回の繰返し分析を行う。

③ ブランク試験を行う。

という 3 つの管理手法を併用することが推奨されている。ただし、i)~iii)の場合により管理試料の分析頻度や繰返し分析する実試料の個数の設定等が異なる。

上記の ix) ではその都度異なる分析を行っているため、特定の管理試料でさまざまな分析を統計学的に管理することが難しいという問題が生じる。そのため、このような分析の場合についてガイドラインは、管理試料よりも実試料に対する回収率テスト(添加回収試験)を管理手法に取り入れることを推奨している。添加回収試験は、妨害ピークの存在や精製工程中の測定成分のロスなど試料のマトリックスに由来する分析への悪影響を発見できる特徴があるため、不特定の試料を扱う場合に有効な手法と言える。その他、i)~iii)の場合と同様に、実試料全てについて 2 回繰返し分析することやブランク試験を実施することとしている。

B.2 二重分析による内部精度管理

本研究では、食品の理化学分析を行う試験所におけるモデルケースとして前述の内部精度管理手法の中から、実試料の二重分析(短い時間間隔の中で試料を 2 回繰返し分析すること)による内部精度管理を取り上げて、そのデータの評価方法について検討した。二重分析を用いた内部精度管理は各試料の分析値が妥当なばらつきの範囲内に存在していることを確認する手段と位置づけられる。同一試料に対する 2 個の分析値の差の絶対値 $|d|$ は、95%及び 99.7%信頼限界として、

$$|d| \leq 2\sigma_d = 2\sqrt{2}\sigma_o \text{ (95\%信頼限界)}$$

$$|d| \leq 3\sigma_d = 3\sqrt{2}\sigma_o \text{ (99.7\%信頼限界)}$$

で表される。

ここで、 σ_d は2つの分析値の差 d の母集団の標準偏差を、 σ_o は分析値の母集団の標準偏差を表す。すなわち、分析したい試料の σ_d 又は σ_o が既知であれば、 $|d|$ の 95% 又は 99.7% 信頼限界を求めることができる。しかしながら、試験所において各実試料の分析は通常 1~3 回程度しか行われないうのが実態と考えられるため、個々の分析試料に対して適切な σ_d や σ_o を推定することは決して現実的ではない。そこで、本研究では管理試料など特定の試料を多数回二重分析して求めた標準偏差を実試料のばらつきの管理基準として採用してみた(すなわち、試料が異なっても σ_d 及び σ_o の推定値はほぼ同等であると仮定した)。また、複数の計算方法を試行し、その結果を比較した。

具体的には、成分分布が均一で、入手及び保存が容易な粉末青汁を試料として、高速液体クロマトグラフ法による硝酸根(硝酸イオン)の定量分析に対して試験的に適用した。本研究では、基礎データとして、市販の粉末青汁試料 1 点を 1 度に 2 回ずつ 20 日間分析した。また、別の粉末青汁試料 6 点を実試料に見立てて、それぞれ 2 回ずつ繰返し分析した。

B.3 倫理面への配慮

本研究では、ヒト及び動物由来の組織、臓器、細胞などを実験に使用していないため、倫理面への特別な配慮は行っていない。

C. 研究結果

C.1 硝酸根の分析方法

試料中の硝酸根は、“五訂日本食品標準成分表分析マニュアル”の硝酸態窒素分析法³⁾を参考に、試料の水抽出液を以下の高速液体クロマトグラフ操作条件で測定し、結果を硝酸根として算出した。

[高速液体クロマトグラフ操作条件]

カラム：Shodex Asahipak NH₂P-50 4E

カラム温度：50 °C

移動相：0.1 mol/L 過塩素酸ナトリウム
を含む 5 mmol/L リン酸塩緩衝液

流量：1.0 ml/min

測定波長：210 nm

注入量：5 μ l

C.2 基礎データの収集

粉末青汁の試料 1 点について、2 回×20 組の硝酸根分析データを収集し、各 2 つの分析値の差及び範囲(差の絶対値)を求めた [Table 1]。

C.3 分析値の差 d の標準偏差による d の 95% 信頼限界の推定

各二重分析で得られた 2 つの分析値を便宜的に x_1 , x_2 として識別し、その差

$$d = x_1 - x_2$$

を生データと見なせば、収集したデータは $n=20$ の d の標本と解釈できるので、その標準偏差 s_d を 2 つの分析値の差の母標準偏差 σ_d の推定値とした。

まず、2 つの分析値の差 d の分散 V_d は、

$$\begin{aligned} V_d &= \{ \sum d_i^2 - (\sum d_i)^2 / n \} / (n-1) \\ &= (0.2696 - 0.10^2 / 20) / (20-1) \\ &= 0.01416 \end{aligned}$$

であった。次に、2 つの分析値の差 d の標準偏差 s_d を次式により求めた。

$$s_d = \sqrt{V_d}$$

$$= \sqrt{0.01416}$$

$$= 0.12 \text{ g/kg}$$

次に、 $|d| \leq 2\sigma_d$ の σ_d の推定値として先に求めた s_d を代入すると、2つの分析値の差 d の95%信頼限界は、

$$|d| \leq 2s_d$$

$$= 2 \times 0.12$$

$$= 0.24 \text{ g/kg}$$

と推定された。

C.4 分析値の標準偏差による d の95%信頼限界の推定

前出の内部精度管理の共通化ガイドラインによれば、 n 組の2つの分析値の差 d_i の情報から、次式により σ_d を推定することができる。

$$s_r = \sqrt{(\sum d_i^2 / 2n)}$$

この式に、C.2で得られた基礎データの $\sum d_i^2$ 及び n の値を代入すると、

$$s_r = \sqrt{(\sum d_i^2 / 2n)}$$

$$= \sqrt{(0.2696 / 40)}$$

$$= 0.0821 \text{ g/kg}$$

が得られた。

$|d| \leq 2\sqrt{2} \sigma_d$ の σ_d の推定値として先に求めた s_r を代入すると、2つの分析値の差 d の95%信頼限界は、

$$|d| \leq 2\sqrt{2} s_r$$

$$= 2\sqrt{2} \times 0.0821$$

$$= 0.23 \text{ g/kg}$$

と推定された。

C.5 範囲の平均による d の95%信頼限界の推定

内部精度管理の共通化ガイドラインでも付録として取り上げられているシューハー

ト管理図⁴⁾による手法の中に測定値の範囲を指標にした R 管理図がある。繰返し試験数が2回の場合、測定値の範囲 R は差の絶対値と同意になるので、C.2で得られた基礎データについて、 R 管理図の考え方に従って2つの測定値の差の95%信頼限界を推定した。なお、 R 管理図の上方管理限界の計算式

$$R \leq D_4 \cdot R_{\text{mean}}$$

の係数 D_4 （繰返し試験数が2回の場合3.267）の代わりに、95%信頼限界に相当する2.51を用いた。

$$|d| = R \leq 2.51 R_{\text{mean}}$$

$$= 2.51 \times 0.095$$

$$= 0.24 \text{ g/kg}$$

C.6 推定結果のまとめ

C.3、C.4及びC.5の各手順従って推定した2つの測定値の差の95%信頼限界推定結果をTable2に示した。

C.7 Horwitz式による d の95%信頼限界の推定(参考)

多数の共同実験データから経験的に求められた分析種濃度(質量分率 C)と室間再現標準偏差(s_R)の関係式であるHorwitz式

$$s_R = 0.02 \cdot C^{0.8495}$$

を利用して、本研究で収集した粉末青汁試料の硝酸根について測定値の差の95%信頼限界を推算した。ただし、推算に際しては、分析値の併行標準偏差 s_r は室間再現標準偏差 s_R の2分の1相当であると仮定した。

Horwitz式及び上記の仮定から、併行標準偏差 s_r は、

$$s_r = s_R / 2 = 0.01 \cdot C^{0.8495}$$

で表される。この式の C に、粉末青汁試料

の硝酸根分析値の総平均 6.7195 g/kg に相当する質量分率 0.0067195 を代入すると、

$$\begin{aligned} s_r &= 0.01 \times 0.0067195^{0.8495} \\ &= 0.0001427 \end{aligned}$$

であった。この s_r を 2 つの分析値の差 d の 95%信頼限界計算式 $|d| \leq 2\sqrt{2}\sigma_d$ の σ_d に代入すると、

$$\begin{aligned} |d| &\leq 2\sqrt{2} s_d \\ &= 2\sqrt{2} \times 0.0001427 \\ &= 0.00040 \end{aligned}$$

であった。この質量分率を分析値の単位に変換して、

$$|d| \leq 0.40 \text{ g/kg}$$

という 95%信頼限界の推算結果が得られた。

C.8 実試料の分析データ収集

粉末青汁の試料 6 点について、各々硝酸根の二重分析を実施し、2 つの分析値の差の絶対値を求めた [Table 3]。

D. 考察

D.1 差 d の 95%信頼限界推定手順の比較

C.2 で得られた基礎データを用いて C.3, C.4 及び C.5 の 3 通りの手順によって求めた差 d の 95%信頼限界値は、ほぼ同等の推定結果を与えた。

また、これらの差 d の 95%信頼限界値は、Horwitz 式から推算した値と比べておよそ 2 分の 1 の水準であった。この点については、今回採用した分析法が単純な操作手順によるものであったため、測定精度が高く、2 つの分析値のばらつきが比較的低い水準に抑えられた可能性が考えられた。なお、一般論として二重分析値の差の 95%信頼限界が Horwitz 式からの推定値の範囲内に収まるか否かは、他の分析種及び分析法によ

るデータ収集が必要である。

D.2 実試料への適用

特定試料の分析データから算出した 2 つの分析値の差の 95%信頼限界値を日常分析する実試料の分析値のばらつき管理基準に設定し、実試料の二重分析データを評価した結果、分析した 6 試料の 2 つの分析値の差の絶対値 $|d|$ は、0.00 ~ 0.18 g/kg で、いずれも設定した管理基準内であった。

これより、「特定の試料の二重分析データから算出した差の信頼限界値は他の類似試料の二重分析値の差の信頼限界とほぼ同等である。」と仮定して、これを実試料の分析値のばらつき管理に利用することが可能であると考えられた。

D.3 二重分析による精度管理の問題点

二重分析による精度管理は、その手法の特性上、得られた分析値の真度に関する評価を与えない。したがって、単独で用いることでは内部精度管理として十分とは言えない。

本研究において実試料として使用した粉末青汁 6 点の硝酸根含量は、ばらつきの管理基準設定に用いた粉末青汁試料 1 点の硝酸根含量に対して約 3 分の 2 から約 4 倍の範囲に分布していた。これより、ある程度濃度が異なる試料に対しても同一の管理基準で運用できる可能性が期待された。一方で、Horwitz 式によれば分析種の濃度が 1 桁増加すると標準偏差は約 7 倍に変化することから、実際にどの程度の濃度範囲まで一括して管理できるのかを判断するには更に詳細な検討が必要である。同様に、どの程度の試料種(マトリックス)を同一の管理基準