

定量計算の基礎 分析値の信頼性を確保する不確かさの見積もり

国立研究開発法人産業技術総合研究所

渡邊卓朗

はじめに

- 分析値の信頼性を確保するには、信頼性の高い標準物質を利用して検量線を作成し、それを用いて定量する必要がある。
- 近年では、分析値のみならずその不確かさの付与も求められている。
- 分析値の不確かさを付与するためには、用いた標準物質や作成した検量線の質を評価して、定量結果に反映する事が必要である。

「分析値の不確かさ」が含む不確かさの要因

1. 検量線作成用(校正用)標準物質の濃度の不確かさ
 - 原料の純物質の純度の不確かさ、校正用標準物質調製の不確かさ等を含む。
2. 検量線作成時の測定の不確かさ
 - 検量線の傾きと切片、それぞれの不確かさも推定する。
3. 未知試料測定の不確かさ

問題点

- 一般的なGCのワークステーションの定量計算ソフトウェアでは、未知試料測定時の測定値の標準偏差しか得られない。
⇒ユーザー自身が不確かさを推定する必要がある。

「分析値の不確かさ」の算出

- 「JIS K 0114 ガスクロマトグラフィー通則 解説」に、分析値の不確かさを見積もる方法の一例が紹介されている
 - ① 校正用標準物質の調製、濃度値及びその不確かさの算出
 - ② 検量線の作成及びその検量線の質の評価
 - ③ 未知試料の測定、測定値及びその不確かさの算出
 - ④ 不確かさの計算例

「分析値の不確かさ」の算出

- 本講演では、「JIS K 0114 ガスクロマトグラフィー通則 解説」に掲載の方法等について紹介する。
- なお、一連の過程において、限られた情報からの推定や簡略化した手法の採用による、不確かさの過大評価及び過小評価のリスクが存在していることについて、留意する必要がある。
- 不確かさの過大評価及び過小評価、それぞれの程度についての情報がないので、それぞれを相殺して不確かさを求めることはできない。

※ 本講演資料の一部は、JIS K 0114:2012 ガスクロマトグラフィー通則 解説5.の記載を引用、引用の一部について補足・修正を行っている。

- I. 校正用標準物質の調製、濃度値及びその不確かさの見積り
- II. 検量線の作成及びその検量線の質の評価
- III. 未知試料の測定、測定値及びその不確かさの見積り
- IV. 標準液の調製における濃度及び不確かさの計算例
- V. 未知試料濃度定量の計算例

I 校正用標準物質の調製、 濃度値及びその不確かさの見積り

- 認証標準物質(CRM)や標準物質(RM)を用いる場合
 - － 濃度値とその不確かさが付与されている場合には、それを使用することが望ましい。
⇒「II 検量線の作成及びその検量線の質の評価」へ
- 試薬類を用いて調製する場合
 - － CRMやRMが入手できないときは、使用者が試薬類を用いて調製し、濃度値及びその不確かさを見積る。
 - － 校正用標準物質を調製するためには、純度及びその不確かさが付与された原料が必要である。
 - － 純度及びその不確かさが付与されていない場合は、使用者が適切な方法を用いて見積る、もしくは与えられた情報から推定する。

標準物質調製時に使用する溶質(原料)の 純度及びその不確かさの算出

- 標準物質調製時に使用する原料の純度に関する情報について、使用者に与えられているものの種類は、大きく分けて次の三つである。
 - － 純度及びその不確かさの表記があるもの(例:NMIJ CRMなどの認証標準物質)
 - － “純度:xx.x %以上”などといった表記のあるもの(例:製造業者保証値記載の試薬)
 - － 純度及び不純物に関する情報がないもの

純度及びその不確かさの 表記があるもの

- 認証標準物質のように純度値及びその不確かさが表記されているものについては、その値を使用する。
- ただし、付与されている値の単位が異なっている場合があるので、注意する。
- 単位が異なっている場合には、使用者が自身の責任において単位変換を行う必要がある。

“純度：xx.x%以上”などといった 表記のあるもの

- 市販の試薬のように、製造業者が保証する純度値などの表記があるものについては、その表記から得られる情報を用いて、原料の純度及びその不確かさを推定する。
- 純度値を推定する際には、表記されている純度値を、その原料の純度の中心値、すなわち純度値として使用する。
 - “純度98.0 %以上”と表記されていた場合、純度値は98.0 %
- 純度の情報から見積られる不確かさ及び不純物の情報から見積られる不確かさをそれぞれ推定し、これらの不確かさを合成することによって原料の純度の不確かさを見積る。
 - 限られた情報や簡略化された手法を用いることによる、不確かさの過小評価のリスクについて留意する必要がある。

純度の情報から見積られる不確かさ

- 表記されている純度 x を原料の純度の中心値とし、最大値を1 (100 %)とする。
- 原料の純度の中心値と最小値の範囲は、最大値と中心値までの範囲と同じであるとすると、

原料の純度の最大値: 1 (100%)

原料の純度の中心値: x

原料の純度の最小値: $x - (1 - x) = 2x - 1$

- この中での分布がく(矩)形分布であるとみなして、純度の情報から見積られる不確かさ $u(x_p)$ を見積る。

$$u(x_p) = \frac{1 - (2x - 1)}{2\sqrt{3}} = \frac{2 - 2x}{2\sqrt{3}} = \frac{1 - x}{\sqrt{3}}$$

純度の情報から見積られる不確かさ (計算例)

- 表記されている純度が96.0%(0.960)の場合、原料の純度の中心値は96.0%、最大値を1.000(100.0%)とする。

- 原料の純度の中心値と最小値の範囲は、最大値と中心値までの範囲と同じであるとする、

原料の純度の最大値: 1.000 (100.0%)

原料の純度の中心値: 0.960 (96.0%)

原料の純度の最小値: $0.960 - (1 - 0.960) = 0.920$ (92.0%)

- この中での分布がく(矩)形分布であるとみなして、純度の情報から見積られる不確かさ $u(x_p)$ を見積ると、

$$u(x_p) = \frac{1.000 - 0.960}{\sqrt{3}} = \frac{0.040}{\sqrt{3}} = 2.3 \times 10^{-2} = 2.3\%$$

不純物の情報から見積られる不確かさ

- 表記されている純度 x 及びその純度の評価方法を確認する。
- 合わせて表記されている不純物 i の濃度 x_i とその評価方法を確認する。
- 原料の純度の評価方法を用いて不純物 i の評価を行うことができない場合には、原料の純度の評価において不純物 i の評価が行われていないものとみなし、不純物 i が含まれていることによる不確かさ u_i を見積る。
- 原料に表記されている不純物 i を不純物 i の濃度の中心値とし、最小値を0とする。
- 不純物 i の濃度の中心値と最大値との範囲は、最小値と中心値までの範囲と同じであるとする。

- 不純物 i の濃度の範囲は、
 - 不純物 i の濃度の最大値: $2x_i$
 - 不純物 i の濃度の中心値: x_i
 - 不純物 i の濃度の最小値: 0
- この中での分布がく(矩)形分布であるとみなして、不純物 i の濃度の標準不確かさ $u(x_i)$ を見積る。

$$u(x_i) = \frac{2x_i}{2\sqrt{3}} = \frac{x_i}{\sqrt{3}}$$

- 全ての不純物 i の濃度の不確かさを見積り、それらを合成することによって、不純物の情報から見積られる不確かさ $u(x_{ip})$ を見積る。

$$u(x_{ip}) = \sqrt{\sum u^2(x_i)}$$

不純物の情報から見積られる不確かさ (計算例)

- 純度の評価方法と異なる方法で評価された不純物Aの濃度が0.3%であるとき、この不純物Aの濃度の範囲は、

不純物Aの濃度の最大値: 0.006 (0.6%)

不純物Aの濃度の中心値: 0.003 (0.3%)

不純物Aの濃度の最小値: 0

- この中での分布がく(矩)形分布であるとみなして、不純物Aの濃度の標準不確かさ $u(x_A)$ を見積ると、

$$u(x_A) = \frac{x_A}{\sqrt{3}} = \frac{0.003}{\sqrt{3}} = 0.002 = 0.2\%$$

原料の純度の不確かさの算出

- 純度の情報から見積られる不確かさと不純物の情報から見積られる不確かさを合成することによって、原料の純度の不確かさ $u(x)$ を見積る。

$$u(x) = \sqrt{u^2(x_p) + u^2(x_{ip})}$$

- なお、この純度の不確かさの算出方法には、不確かさをより小さく見積ってしまうリスクがある。
- 原料の純度の不確かさ $u(x)$ が1%未満であった場合、特別な理由がない限り、不確かさの値を1%に切り上げたほうがよい。

試薬純度の不確かさの見積もり例(1)

- 試薬に表記されている純度が99.0%であり、不純物の情報が記載されていない場合

- 純度の情報から見積られる不確かさ $u(x_p)$ は、

$$u(x_p) = \frac{1-x}{\sqrt{3}} = \frac{1-0.990}{\sqrt{3}} = 0.58 \times 10^{-2}$$

- 不純物の情報が表記されていない試薬であるので、不純物の情報から見積られる不確かさ $u(x_{ip})$ を0とする。
- この試薬の純度の標準不確かさ $u(x)$ は、見積られたそれぞれの不確かさを合成することによって求めることができる。

$$u(x) = \sqrt{u^2(x_p) + u^2(x_{ip})} = \sqrt{(0.58 \times 10^{-2})^2 + 0^2} = 0.58 \times 10^{-2} = 0.58 \%$$

- 得られた値は1%未満であるため、1%に切り上げる。

$$\therefore u(x) = 0.01 = 1 \%$$

試薬純度の不確かさの見積もり例(2)

- 以下の表に示すような純度及び不純物情報をもつ試薬Aの場合

成分	濃度
純度 (GC-FID)	>97.0%
水	<1.0%
酸 (HClとして)	<0.5%
不純物B (GC-FID)	<2.0%

- 不純物Bの濃度の評価方法は、物質Aの純度の評価方法と同じであるので、物質Aの純度の評価及び不純物Bの濃度の評価は同時に行われているものとみなすことができる。
- 水及び酸の濃度はGC-FIDを用いて評価することができないので、これらの不純物に由来する不確かさを見積る必要がある。

- 純度の情報から見積られる不確かさは、

$$u(x_p) = \frac{1-x}{\sqrt{3}} = \frac{1-0.970}{\sqrt{3}} = 1.73 \times 10^{-2}$$

- 不純物の情報から見積られる不確かさは、

$$u(x_{water}) = \frac{x_{water}}{\sqrt{3}} = \frac{0.010}{\sqrt{3}} = 5.77 \times 10^{-3}$$

$$u(x_{acid}) = \frac{x_{acid}}{\sqrt{3}} = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 2.89 \times 10^{-3}$$

$$u(x_{ip}) = \sqrt{\sum u^2(x_i)} = \sqrt{(5.77 \times 10^{-3})^2 + (2.89 \times 10^{-3})^2} = \sqrt{4.16 \times 10^{-5}} = 6.45 \times 10^{-3}$$

- この試薬の純度の標準不確かさ $u(x)$ は、見積られたそれぞれの不確かさを合成することによって求めることができるので、

$$\begin{aligned} u(x) &= \sqrt{u^2(x_p) + u^2(x_{ip})} = \sqrt{(1.73 \times 10^{-2})^2 + (6.45 \times 10^{-3})^2} = \sqrt{3.41 \times 10^{-4}} = 1.85 \times 10^{-2} \\ &= 1.85\% \end{aligned}$$

純度又は不純物に関する情報が 無い試薬を使用する場合

- 純度が確保された標準物質が入手できない場合、不確かさの見積りは、以下の表に示す評価方法を複数組み合わせるか、又は一つの方法を選択して行う。

差数法
面積百分率法
修正面積百分率法
示差走査熱量計(DSC)等による凝固点降下法
定量NMRによる方法

- 純度を評価した際には、採用した評価方法の選択理由又は基準を示す。
- 不確かさをより小さく見積ってしまうリスクがあるので、適切な不確かさを含むように留意する。

標準液調製のために使用する溶媒について

- 標準液調製のために使用する溶媒は、分析種を不純物として含まないものを使用する。
- 分析種が不純物として含まれている溶媒を用いる場合、その不純物の濃度を推定し、その推定濃度に1 000を乗じた濃度値以上の標準液調製のみを使用する。
 - 不純物の含有量が1/1000 (0.1%)未満であれば、無視できるほどの小さな不確かさ要因とみなすことができる。

例：濃度1 $\mu\text{g/L}$ のベンゼン標準液を調製する場合には、用いる溶媒に含まれるベンゼンの濃度は1 ng/L 未満であるものが望ましい。

Ⅱ 検量線の作成及びその検量線の質の評価

- 水素炎イオン化検出器 (FID) や熱伝導度検出器 (TCD) は、測定対象化合物の物質質量に比例した応答、すなわち、検量線は直線である。
- 質量分析計 (MS) を用いて作成された検量線も一般的には直線である。
 - MSでは以下の方法が用いられる。いずれも、検量線は一般的に直線である。
 - 絶対検量線法
 - 標準添加法
 - 内標準法

- 検量線が直線の場合、 n 番目の標準物質の濃度に関するパラメーターを x_n 、 n 番目の標準物質に対する分析機器の応答に関するパラメーターを y_n とすると、作成された検量線の式は、

$$y=a+b \cdot x \quad (\text{式1})$$

ここで、 a :作成した検量線の y 切片

b :作成した検量線の傾き

- 以降の説明は絶対検量線法を用いる場合とする。標準添加法及び内標準法へ適用する場合は読み替えを行うこと。

	パラメーター x_n	パラメーター y_n
絶対検量線法	標準物質(標準液)の濃度	検出器からの応答値
標準添加法	試料に添加された標準液の量	検出器からの応答値
内標準法	内標準物質1単位濃度当たりの被検成分標準液の濃度	被検成分と内標準物質の応答比

濃度と応答値との真の関係式の推定

- 濃度と応答値との真の関係式を推定するために、最小二乗法を使用する。
- 標準物質の濃度及び分析機器の応答値はそれぞれ不確かさをもっているが、この場合の完全な最小二乗法の取扱いは、非常に複雑な表現が必要となる。
- JIS記載の方法では、不確かさが含まれない条件、すなわち一般的によく知られている最小二乗法を用いて、検量線の式を推定する。
 - 標準物質の濃度の不確かさと標準物質を測定したときの不確かさ(検量線作成時の分析機器応答値の不確かさ)は、後で合成する。
- 標準液の数 n が1又は2の場合には、以下に示す方法で作成された検量線由来の不確かさを見積ることはできない。
 - 途中の計算において、分母に $(n-2)$ を乗ずる項がある。

濃度と応答値との真の関係式の推定

- 最小二乗法を用いて切片 a 及び傾き b を求めると、

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_n^2 \sum_{i=1}^n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n x_n y_n}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} \quad (\text{式2})$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} \quad (\text{式3})$$

切片及び傾きそれぞれの標準誤差の推定

- a 及び b それぞれの標準誤差を $s_n(a)$ 、及び $s_n(b)$ とすると、

$$s_n(a) = \sqrt{\frac{\left\{ n \sum_{i=1}^n y_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n y_n \right)^2 - \frac{\left[n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n \right]^2}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} \right\} \sum_{i=1}^n x_n^2}{n(n-2) \left[n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2 \right]}} \quad (\text{式4})$$

$$s_n(b) = \sqrt{\frac{\left\{ n \sum_{i=1}^n y_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n y_n \right)^2 - \frac{\left[n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n \right]^2}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} \right\}}{(n-2) \left[n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2 \right]}} \quad (\text{式5})$$

切片及び傾きそれぞれの標準不確かさの推定

- 切片 a 及び傾き b それぞれの標準誤差に由来する標準不確かさ $u(a)$ 及び $u(b)$ は、それぞれく(矩)形分布を仮定し、標準誤差を $\sqrt{3}$ で除することによって推定することができる。

$$u(a) = \frac{s_n(a)}{\sqrt{3}} \quad (\text{式6})$$

$$u(b) = \frac{s_n(b)}{\sqrt{3}} \quad (\text{式7})$$

Ⅲ 未知試料の測定、 測定値及びその不確かさの見積り

- 未知試料に対する分析機器の応答 y' が得られたとき、検量線を用いて未知試料の濃度 x' を逆推定すると、

$$x' = \frac{y' - a}{b} \quad (\text{式8})$$

- このときの x' の標準不確かさ $u(x')$ を見積るためには、

$$\begin{aligned} u(x') &= \sqrt{\left(\frac{\partial x'}{\partial y'}\right) \cdot u^2(y') + \left(\frac{\partial x'}{\partial a}\right)^2 \cdot u^2(a) + \left(\frac{\partial x'}{\partial b}\right)^2 \cdot u^2(b)} \\ &= \sqrt{\left(\frac{1}{b}\right) \cdot u^2(y') + \left(-\frac{1}{b}\right)^2 \cdot u^2(a) + \left(-\frac{y' - a}{b^2}\right)^2 \cdot u^2(b)} \end{aligned} \quad (\text{式9})$$

- また、 x' の相対標準不確かさ $u_{rel}(x')$ を見積るためには、

$$u_{rel}(x') = \frac{u(x')}{x'} \quad (\text{式10})$$

注：切片 a と傾き b を独立変数とみなしているため、不確かさを過小に見積もっている。

- 式9及び式10を用いて得られた不確かさには、検量線作成時における標準物質の濃度の不確かさと標準物質を測定したときの不確かさが含まれていない。
- 検量線を用いて未知試料の濃度 x' を逆推定した際の濃度値の相対標準不確かさ u_{rel} は、以下に示す不確かさを合成したものの。
 - 式10で求めた x' の相対標準不確かさ $u_{rel}(x')$
 - 検量線の作成のために使用された標準物質の濃度の相対標準不確かさ $u_{rel}(C)$
 - 標準物質を測定したときの相対標準不確かさ(検量線作成時の分析機器応答値の相対標準不確かさ) $u_{rel}(y)$

- 検量線作成時における標準物質の濃度の不確かさは、以下のように推定する。
 - 検量線の作成に使用された標準物質全てについて、濃度値 C_n 及びその標準不確かさ $u(C_n)$ を用いて濃度値の相対標準不確かさ $u_{rel}(C_n)$ を求める。
 - 得られた各 $u_{rel}(C_n)$ の中で最も大きな値を、検量線の作成のために使用された標準物質の濃度の相対標準不確かさ $u_{rel}(C)$ であるとみなす。
 - 不確かさを過大評価している点に留意する。

- 標準物質を測定したときの不確かさは、以下のように推定する。
 - 検量線の作成では標準物質毎に繰り返し測定を行って分析機器の応答値を得ているので、それぞれについて応答値の平均値 y_n 及びその標準不確かさ $u(y_n)$ を用いて応答値の相対標準不確かさ $u_{rel}(y_n)$ を求める。
 - 得られた各 $u_{rel}(y_n)$ の中で最も大きな値を、標準物質を測定したときの相対標準不確かさ $u_{rel}(y)$ であるとみなす。
 - 不確かさを過大評価している点に留意する。

- 検量線を用いて未知試料の濃度 x' を逆推定した際の濃度値の相対標準不確かさ u_{rel} は、以下に示す不確かさを合成したものの。
 - 式10で求めた x' の相対標準不確かさ $u_{rel}(x')$
 - 検量線の作成のために使用された標準物質の濃度の相対標準不確かさ $u_{rel}(C)$
 - 標準物質を測定したときの相対標準不確かさ(検量線作成時の分析機器応答値の相対標準不確かさ) $u_{rel}(y)$

すなわち、

$$u_{rel} = \sqrt{u_{rel}^2(x') + u_{rel}^2(C) + u_{rel}^2(y)} \quad (\text{式11})$$

したがって、

$$u = x' \cdot u_{rel} \quad (\text{式12})$$

④ 標準液の調製における 濃度及び不確かさの計算例

- JIS K 0125:2016 附属書A.4のak)ジブロモクロロメタン標準液(CHBr_2Cl : 50 mg/mL)に記載の方法に従って標準液を調製した場合について例を示す。

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr_2Cl : 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し、その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し、その質量を測定する。次に、ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は、前後の質量の差から求める。

[この例における原料純度・器具の性能]

- ジブロモクロロメタン: 純度0.980 kg/kg (98.0%)、標準不確かさ 0.012 kg/kg
- 全量フラスコ: 容量50.00 mL、許容誤差 ± 0.06 mL
- 電子天びん: 最大秤量 200 g、最小表示 1 mg、繰返しの標準偏差 1 mg、直線性 ± 2 mg
- 溶媒: ヘキサン (溶媒中に含まれるジブロモクロロメタンは、50 $\mu\text{g/L}$ 未満のもの)

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr₂Cl: 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し, その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し, その質量を測定する。次に, ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は, 前後の質量の差から求める。

測定して得られた質量(m_0) : 96.999 g

質量測定時の不確かさ要因

項目	値	タイプ	標準不確かさ
電子天秤の繰返し性	1 mg	B	0.58 mg
電子天秤の直線性	±2 mg	B	1.15 mg

タイプBの不確かさ要因であるので、く(矩)形分布を仮定し、 $\sqrt{3}$ で除することによって標準不確かさを求める。

各不確かさ要因の標準不確かさを合成して質量(m_0)の標準不確かさ $u(m_0)$ を求める。

$$u(m_0) = \sqrt{0.58^2 + 1.15^2} = 1.29 \text{ mg}$$

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr_2Cl : 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し、その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し、その質量を測定する。次に、ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は、前後の質量の差から求める。

測定して得られた質量(m_1) : 99.654 g

質量(m_1)の標準不確かさ $u(m_1)$ は、先ほどと同じように求める。

$u(m_1)$: 1.29 mg

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr₂Cl: 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し、その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し、その質量を測定する。次に、ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は、前後の質量の差から求める。

前後の質量の差: $\Delta m = m_1 - m_0 = 99.654 - 96.999 = 2.655 \text{ mg}$

前後の質量の差(全量フラスコに入れたジブロモクロロメタンの質量) Δm の標準不確かさ $u(\Delta m)$ は、不確かさの伝播則に従って計算する。

$$u(\Delta m) = \sqrt{\left(\frac{\partial \Delta m}{\partial m_1}\right)^2 \cdot u^2(m_1) + \left(\frac{\partial \Delta m}{\partial m_0}\right)^2 \cdot u^2(m_0)} = \sqrt{u^2(m_1) + u^2(m_0)} = 1.82 \text{ mg}$$

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr₂Cl: 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し、その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し、その質量を測定する。次に、ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は、前後の質量の差から求める。

調製した標準液の濃度 C は、全量フラスコに入れたジブロモクロロメタンの質量 Δm 、ジブロモクロロメタンの純度 C_{raw} 、全量フラスコの容量 V から計算すればよい。

$$C = \frac{\Delta m \times C_{raw}}{V} = \frac{2.655 \times 0.980}{50.00} = 5.20 \times 10^{-2} \text{ g/mL}$$

$$\therefore 52.0 \text{ mg/mL}$$

ak) ジブロモクロロメタン標準液 (CHBr₂Cl: 50 mg/mL) 全量フラスコ 50 mL にヘキサン約 40 mL を入れて密栓し、その質量を測定する。ジブロモクロロメタン 1.1 mL を手早く加えて密栓し、その質量を測定する。次に、ヘキサンを標線まで加える。この溶液の濃度は、前後の質量の差から求める。

調製した標準液の濃度 C の合成標準不確かさは、不確かさの伝播則に従って計算すればよい。

全量フラスコの容量の標準不確かさは、タイプ B の不確かさ要因であるので、く(矩)形分布を仮定し、許容誤差を $\sqrt{3}$ で除することによって標準不確かさを計算すればよい。

$$u(C) = \sqrt{\left(\frac{\partial C}{\partial \Delta m}\right)^2 \cdot u^2(\Delta m) + \left(\frac{\partial C}{\partial C_{raw}}\right)^2 \cdot u^2(C_{raw}) + \left(\frac{\partial C}{\partial V}\right)^2 \cdot u^2(V)}$$

$$= \sqrt{\left(\frac{C_{raw}}{V}\right)^2 \cdot u^2(\Delta m) + \left(\frac{\Delta m}{V}\right)^2 \cdot u^2(C_{raw}) + \left(-\frac{\Delta m \cdot C_{raw}}{V^2}\right)^2 \cdot u^2(V)}$$

$$= 6.39 \times 10^{-4} \text{ g/mL}$$

$$\therefore 6.39 \times 10^{-1} \text{ mg/mL}$$

V 未知試料濃度定量の計算例

	標準液 1	標準液 2	標準液 3	標準液 4	標準液 5
濃度値 C_n (mg/L)	97.54	202.57	300.34	397.86	489.92
濃度値の標準不確かさ $u(C_n)$ (mg/L)	1.23	1.37	1.49	1.57	1.94
濃度値の相対標準不確かさ $u_{rel}(C_n)$	1.26 %	0.68 %	0.50 %	0.39 %	0.40 %

- 上に示すような標準液を調製し、検量線作成のために使用。
- 調製した標準液のうち、濃度値の相対標準不確かさが最も大きいのは標準液1の1.26 %である。
- よって、検量線の作成のために使用された標準物質の濃度の相対標準不確かさ $u_{rel}(C)$ は、1.26 %である。

標準液の測定結果

	標準液 1	標準液 2	標準液 3	標準液 4	標準液 5
	99 231	202 578	303 633	395 963	492 477
	97 593	200 711	302 568	397 198	494 499
	98 998	204 055	304 219	398 396	495 222
	96 296	203 194	301 111	394 122	491 024
平均値	98 030	202 635	302 883	396 420	493 306
標準偏差	1 363	1 418	1 365	1 826	1 914
標準不確かさ	682	709	682	913	957
相対標準不確かさ	0.696%	0.350%	0.225%	0.230%	0.194%

- 上記の結果を用いて式1の切片 a 及び傾き b を、最小二乗法を用いて推定する。
- 各標準液を繰り返し測定した結果、標準物質を測定したときの相対標準不確かさ(検量線作成時の分析機器応答値の相対標準不確かさ)が最も大きいのは標準液1の0.70 % である。
- よって、標準物質を測定したときの相対標準不確かさ $u_{rel}(y)$ は、0.70 % である。

- 式2及び式3を用いて切片*a*及び傾き*b*を推定すると

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_n^2 \sum_{i=1}^n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n x_n y_n}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} = -2.59 \times 10^2$$

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} = 1.00 \times 10^3$$

- 切片 a 及び傾き b のそれぞれの標準誤差 $s_n(a)$ 、 $s_n(b)$ は、式4及び式5を用いて推定することができるので、

$$s_n(a) = \sqrt{\frac{\left\{ n \sum_{i=1}^n y_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n y_n \right)^2 - \frac{\left[n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n \right]^2}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2} \right\} \sum_{i=1}^n x_n^2}{n(n-2) \left[n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2 \right]}} = 2.24 \times 10^3$$

$$s_n(b) = \sqrt{\frac{n \sum_{i=1}^n y_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n y_n \right)^2 - \frac{\left[n \sum_{i=1}^n x_n y_n - \sum_{i=1}^n x_n \sum_{i=1}^n y_n \right]^2}{n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2}}{(n-2) \left[n \sum_{i=1}^n x_n^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_n \right)^2 \right]}} = 6.82$$

- 検量線の切片 a 及び傾き b の標準誤差に由来する不確かさは、式6及び式7を用いて推定すると

$$u(a) = \frac{S_n(a)}{\sqrt{3}} = \frac{2.24 \times 10^3}{\sqrt{3}} = 1.29 \times 10^3$$

$$u(b) = \frac{S_n(b)}{\sqrt{3}} = \frac{6.82}{\sqrt{3}} = 3.94$$

濃度未知試料の測定

- 検量線作成時と同条件にて濃度未知試料中の分析種の測定を行った。

	未知試料
	182 495
	181 967
	183 381
	179 644
平均値	181 872
標準偏差	1 596

- 未知試料中の分析種に対する分析機器の応答 y' は181 872、応答 y' の標準不確かさ $u(y')$ は応答 y' の標準偏差を測定回数 n の平方根で除した値なので、

$$u(y') = 1\,596 / \sqrt{4} = 798$$

濃度未知試料中分析種の濃度の推定

- 作成された検量線の式8を用いて未知試料中の分析種の濃度 x' を推定すると、

$$x' = \frac{y' - a}{b} = \frac{181\,872 - (-2.59 \times 10^2)}{1.00 \times 10^3} = 182$$

推定した濃度値の不確かさ計算

- 作成された検量線を用いて未知試料中の分析種の濃度 x' を推定した際の濃度値の標準不確かさ u は、式9、式10、式11及び式12から、

$$\begin{aligned}
 u(x') &= \sqrt{\left(\frac{\partial x'}{\partial y'}\right)^2 \cdot u^2(y') + \left(\frac{\partial x'}{\partial a}\right)^2 \cdot u^2(a) + \left(\frac{\partial x'}{\partial b}\right)^2 \cdot u^2(b)} \\
 &= \sqrt{\left(\frac{1}{b}\right)^2 \cdot u^2(y') + \left(-\frac{1}{b}\right)^2 \cdot u^2(a) + \left(-\frac{y'-a}{b^2}\right)^2 \cdot u^2(b)} \\
 &= \sqrt{\left(\frac{1}{1.00 \times 10^3}\right)^2 \cdot 798^2 + \left(-\frac{1}{1.00 \times 10^3}\right)^2 \cdot (1.29 \times 10^3)^2 + \left(-\frac{181872 - 2.59 \times 10^2}{(1.00 \times 10^3)^2}\right)^2 \cdot 3.94^2} \\
 &= 1.68
 \end{aligned}$$

$$u_{rel}(x') = \frac{u(x')}{x} = \frac{1.68}{182} = 0.00923 = 0.92\%$$

$$u_{rel} = \sqrt{u_{rel}^2(x') + u_{rel}^2(C) + u_{rel}^2(y)} = \sqrt{(0.92\%)^2 + (1.26\%)^2 + (0.70\%)^2} = 1.71\%$$

$$u = x' \cdot u_{rel} = 182 \times 1.71\% = 3.11 \text{ mg/L}$$

- 約95 %の信頼の水準をもつと推定される区間を求める場合には、得られた合成標準不確かさ及び包含係数 $k=2$ から決定される拡張不確かさ U を導けばよいので、

$$U = k \cdot u(x') = 2 \cdot 3.11 = 6.22 \text{ mg/L}$$

- 濃度値の桁に合わせて拡張不確かさの端数を切り上げると、

$$U = 7 \text{ mg/L}$$

- 以上から、未知試料中の分析種の濃度値及びその拡張不確かさは、

$$(182 \pm 7) \text{ mg/L}$$

注：説明のために途中のいくつかの時点で数値を丸めているので、表計算ソフトウェア等を用いて計算した結果とは異なる。

終わりに

- 分析値の不確かさを表現するにはどのように計算すればよいか、検量線の質を評価してどのように不確かさを付与すればよいか、JIS K 0114 ガスクロマトグラフィー通則 解説 5.で述べられている方法について、紹介した。
- なお、一連の過程において、限られた情報からの推定や簡略化した手法の採用による、不確かさの過大評価及び過小評価のリスクが存在していることについて、留意する必要がある。
- 不確かさの過大評価及び過小評価、それぞれの程度についての情報がないので、それぞれを相殺して不確かさを求めることはできない。