

《暫定翻訳》

この翻訳は正式なものではありません。
取扱はご注意ください。

国際純正および応用化学連合 (IUPAC)

分析、応用、臨床、無機及び物理化学部門
分析試験施設のための品質保証計画
ハーモナイゼーションに関する国際調査委員会*

IUPAC/ISO/AOAC INTERNATIONAL/EURACHEM

**HARMONISED GUIDELINES FOR THE USE OF RECOVERY INFORMATION IN
ANALYTICAL MEASUREMENT**

(Technical Report)

分析測定での回収率情報の使用に関するハーモナイズされたガイドライン

(技術報告書)

IUPAC、ISO、およびAOACインターナショナルの後援のもと、
1996年9月4～5日、アメリカ合衆国、オランダで開催された、分析試験施設のための
品質保証システムのハーモナイゼーションに関するシンポジウムの結果から

作成及び出版

MICHAEL THOMPSON¹, STEVEN L R ELLISON²,
ALE@FAJGELJ³, PAUL WILLETTS⁴ AND ROGER WOOD⁴

- ¹ 化学省、バークベック・カレッジ (ロンドン大学)、イギリス、ロンドン WC1H 0PP
² 政府化学者研究所、イギリス、ミドルセックス TW11 0LY, Teddington、クイーンズ・ロード
³ 国際原子力機関 (IAEA)、オーストラリア、A-2444 Seibersdorf、Agency's Laboratories
Seibersdorf
⁴ MAFF 食品科学研究所、イギリス、ノリッジ NR4 7UQ、Colney、ノリッジ研究パーク

* 1995～1999年の調査委員会会員は、以下の通りであった。

議長: M. Parkany、1995～97 (スイス) ; A. Fajgelj、1997～、(IAEA、オーストリア) ;
メンバー: T.B. Anglov (デンマーク) ; K. Bergknut (ノルウェー) ; K.G. Boroviczeny
(Grmany) ; カルメン Camara (スペイン) ; K. Camman (ドイツ) ; Jyette Molin
Christensen (デンマーク) ; S. Coates (AOAC Int.、USA) ; W.P. Cofino (オランダ) ; P.
De Bievre (ベルギー) ; T.D. Geary (オーストラリア) ; T. Gills (USA) ; A. J. Head
(UK) ; J. Hlavay (ハンガリー) ; D.G. Holcombe (UK) ; P.T. Holland (ニュージーランド)
; W. Horwitz (USA) ; A. Kallner (スウェーデン) ; H. Klich (ドイツ) ; J.
Kristiansen (デンマーク) ; Helen Liddy (オーストラリア) ; E.A. Maier (ベルギー) ; H.
Muntau (イタリア) ; C. Nieto De Castro (ポルトガル) ; E. Olsen (デンマーク) ; Nancy
Palmer (USA) ; S.D. Raspberry (USA) ; M. トンプソン (UK) ; M. J. Vernengo (アルゼンチ
ン) ; R. Wood (UK)。

本報告書の再発行は、完全に参考文献を記載し、IUPAC著作権シンボル (© 1995 IUPAC) をつけた承認が印刷されている条件下では、正式なIUPAC許可の必要なしに実施が認められている。別の言語への翻訳出版は、関連IUPAC National Adhering Organizationから、あらかじめ承認を受けるといふ追加的な条件が必要である。

分析測定での回収率情報の使用に関するハーモナイズされたガイドライン (技術報告書)

要約 ISO、IUPAC 及び AOAC インターナショナルは、「方法性能試験の設計、実施及び解釈」[1]、「(化学) 分析試験施設の熟達度試験」[2]、及び「分析化学試験施設における内部品質管理」[3]に関する、協定プロトコルまたはガイドラインを作成するために協力してきた。これらのプロトコル／ガイドラインを作成した作業委員会は、分析測定における回収率情報の使用に関するガイドラインを作成するよう依頼を受けた。そのようなガイドラインでは、使用される内部品質管理施策において分析的なデータを派生している試験施設に最低限の推薦を概説しなければならないと思われる。

ガイドライン草稿は、IUPAC/ISO/AOAC インターナショナルの後援により、1996年9月4～5日にアメリカ合衆国、オーランドで開催された第7回化学試験施設における品質保証システムのハーモナイゼーションに関する国際シンポジウムで審議された。シンポジウムからの会議録は利用可能である[4]。

これらのガイドラインの目的は、分析手順中の分析物の損失が不可避の場合、分析のこれらのタイプを考慮するのに必要な概念の構成の概要を説明することである。そのような概念の構成が設定されない限り、一定の問題を満足には対処できず、それ故、複雑さをなくすことができないままになっている。未解決の問題には、(a) 試験物質のマトリックスからの分析物の回収率を推定するための方法の妥当性、及び(b) 回収率の推定を、試験結果を求めるための生データ補正に使用すべきなのかどうか、ということが含まれている。これらの考慮点により、最も影響を受けた化学分析のタイプは、複雑なマトリックス中にかなり低濃度で有機分析物が存在しているタイプである。

目次

1. 緒言
2. ガイドラインで使用した定義と用語
3. 回収率評価手順
 - 3.1 標準物質からの回収率
 - 3.2 代理物質 (surrogates)からの回収率情報
 - 3.2.1 同位体希釈
 - 3.2.2 添加
 - 3.2.3 内標準
 - 3.3 マトリックス不一致
 - 3.4 分析物濃度
4. 回収率情報は、測定補正のために使用すべきか？
 - 4.1 補正に関する議論
 - 4.2 補正に対する議論
 - 4.3 示性方法及び実験的方法
5. 回収率の推定
 - 5.1 代表的な回収率試験
 - 5.2 内部品質管理
6. 報告回収率における不確定性
 - 6.1 回収率における推定不確定性
7. 結論
8. 勧告
9. 参考文献

添付資料：報告回収率における不確実性

序文

分析結果を補正／調整するために回収率情報を使用することは、分析化学者にとっては議論を呼びそうだということが認識されている。分析化学の部門によって、実施法も異なってくる。回収係数の使用に関する公式法的要求も部門によって変化する。しかし「真の結果の最善の推定」の準備を援助すること、及び報告された分析結果の比較性に寄与するように思われる一般的なガイドラインを作成することが、IUPACの目的である。

本文書は、それらの範囲内で一般的であることを意図し、上記事項を達成できる最善の共通実施法を反映する推奨を提供するガイドラインを示そうとしている。しかし、分析化学の特定部門では、自分たち自身のためにこれらのガイドラインを開発する必要があると考えられる。従って推奨は、分析化学のすべての領域と連結しているようには見受けられない。

1. 緒言

回収率の推定と使用は、分析化学者によって実施法が異なる領域である。実施法における多様性は、飼料や環境分析のような複雑なマトリックス中の残留動物用医薬品、及び残留農薬のような分析物の測定において最も明瞭である。典型的に、分析のそのような方法は、複雑なマトリックスから機器測定のために分析物を溶解させて使用するとともに単純な溶液中に移すことに依存している。しかし、移動手順を実施することで、分析物が損失する結果となる。その様な手順において良くあることであるが、抽出後もかなりの割合の分析物がマトリックス中に残り、故に移動は不完全で、続く測定では元の試験物質における真の濃度よりも低い値となる。もしこれらの損失の補正がなされないならば、別の試験施設ではかなり矛盾した結果になると考えられる。損失を補正する試験施設もあれば補正しない施設もある場合は、より大きな矛盾が生じてくる。

回収率試験は、バリデーション及び全ての分析方法の使用に、明らかに重要な構成要素である。分析結果の派生と解釈に関連する全ての者が、その問題及び結果が報告されている基盤に気づいていることが重要である。しかし現在のところ、回収率情報を推定、表現及び適用するためのうまく定義されたアプローチが存在していない。分析実施におけるの最も重要な不一致は、分析物の損失による低い偏りを（原則的に）取り除くことができる生データ補正と関連する。補正率を確実に推定する際の難題には、いくつかの分析部門の実行者に、そのような補正を行わないよう思いとどまらせることが含まれる。

回収率情報の推定と使用のための一貫した方針が存在しない状態では、異なる試験施設で派生した試験結果間の妥当な比較をすることや、意図した目的に関するこれらのデータの適合性を立証することが困難である。この不明確さによって、データの解釈において重大な結果につながる可能性がある。例えば、施行分析の文脈において、補正率を分析データに適用する、または適用しないの違いにより、それぞれ結果が、立法上の限界を越えている、または、限界に準拠しているという結果を意味する可能性がある。このように、*真の濃度*を推定することが必要な時には、報告分析結果の計算の際に、損失を強制的に補正する場合がある。

これらのガイドラインでは、分析科学の様々な分野における回収率情報の推定と使用に関して一貫した決定ができることを目指した概念の構成を提示している。

2. ガイドラインで使用した定義と用語

これらのガイドラインが読まれる際には、一般的な分析用語は容認可能であると考えられるが、ガイドラインと特に関連している用語の定義を以下に示す。

回収率： 試験物質の分析部分に存在する、もしくは加えられ、測定のために抽出され、提示された分析物量の割合。

代理物質： 分析物質に添加された純粋な化合物もしくは成分、天然分析物の代表として分取された物質の化学的、物理的作用。

代理回収率： 試料または試験物質に添加として特に加えられた、純粋な化合物もしくは成分の回収率（「限界回収率」と呼ばれることもある）。

天然分析物： 自然過程及び製造手順によって、試験物質中に組み込まれた分析物（「インカード（分析される）分析物」と呼ばれることもある）。分析団体の部門によっては、天然分析物には「インカード（分析される）分析物」及び「残留インカード（分析されるもの）」が含まれると認識されていることもある。それは、分析手順中に加えられた分析物とは区別するために、そのように定義されている。

実験的分析方法 (Empirical Method of Analysis)： 方法自体の観点のみで到達できる値を決定し、測定量を設定する唯一の方法としての定義によって役目を果たす方法（「分析の定義方法」と呼ばれることもある）。

示性分析方法 (Rational Method of Analysis)： 利用可能ないくつかの対応する分析方法が存在すると思われる、同定可能な化学薬品または分析物を測定する方法。

3. 回収率の評価手順

3.1 マトリックス標準物質からの回収率情報

原則として回収率は、マトリックス標準物質の分析によって推定することが可能である。回収率は、存在すると言われている分析物の濃度に対する、検出された分析物濃度の割合である。同じマトリックスの試験物質に関して得られた結果は、原則的には、標準物質に関して認められた回収率に基づいて、回収率に関して補正することができる。しかし、この標準物質の使用に伴う潜在的ないくつかの問題、すなわち、以下の問題が存在する。(a)そのような回収率推定値の妥当性は、分析方法が違った形で不偏性であるとの前提によるものである。(b)利用可能で適切なマトリックス標準物質の範囲は、制限されている。また、(c)試験物質と最も適切な利用可能な標準物質との間で、マトリックスの不一致のある可能性がある。

最後に、標準物質から得られた回収率の値は、厳密に言えば試験物質に適用可能でないと考えられる。均一性及び安定性を保証するために、標準物質を微細に粉碎して乾燥させなければならない食品分析のような部門において、特にこの欠点があてはまる。そのような取り扱いは、同様の生鮮食品に関することと比較して、回収率に影響を与えられられる。しかし、マトリックス不一致は、回収率情報適用の際の一般的な問題であり、セクション 3.3 で別に取り扱っている。

3.2 代理物質からの回収率情報

(認証) 標準物質が利用できない場合は、分析物の回収率は、天然分析物の代理物質として見なされている、加えられた化合物や成分の回収率を検討することにより推定することが可能である。この代理物質が測定段階に移された程度は、別に推定され、適切な場合この回収率は、天然分析物にも起因させることができる。原則的にこの手順は、分析物の損失を補正すること、及び元のマトリックス中での天然分析物濃度の不偏推定をすることを許容している。そのような『回収率補正』技法は、分析のいくつかの明確な方法において暗示的または明示的であり、適切に実施されていることが示すことができる場合は、妥当な手順として見なされなければならない。

この手順が妥当であるためには、代理物質は特に様々な段階間の分配において、マトリックス中の天然分析物と同じように定量的に動向しなければならない。実際には、その同等性は実証することが難しく、ある種の推定がなされなければならない。これらの推定の性質は、使用された代理物質の様々なタイプを考慮することにより見いだすことが可能となる。

3.2.1 同位体希釈

代理物質の最善の種類は、同位体希釈アプローチで使用される、分析物の同位体で修飾された種類である。代理物質の化学的性質は、天然分析物の化学的性質と一致しているかとも似ていて、加えられた分析物と天然分析物が有効な平衡に達している限りは、その回収率は分析物の回収率と同じであることが予想される。同位体希釈法において、代理物質の回収率は、質量分析法、もしくは放射性同位体を使用されている場合は放射測定によってそれぞれ推定することが可能であり、天然分析物に対して有効に適用される。しかし、有効平衡の達成はいつも容易であるとは限らない。

化学系によっては、例えば有機物における微量金属の測定において、天然分析物と代理物質は、マトリックスを崩壊する激しい試薬の適用により、直ちに同じ化学形態に変換される可能性がある。この処置により、有機的に結合した金属は、代理物質との有効平衡において簡単なイオンに変換される。そのような簡単な手順は、通常は微量元素の測定において効果的であるが、残留農薬には適用されない可能性がある。後者の例では、分析物の一部はマトリックスと化学的に結合している可能性がある。激しい化学試薬は、それを崩壊させずに分析物を遊離させるために使用することは、不可能であると考えられる。天然分析物と代理物質は、有効平衡に達することはできない。従って、代理物質の回収率は天然分析物の回収率と比べて大きくなると思われる。このように、この最善のタイプの代理物質に関してでさえ、推定回収率における偏りが生じる。更に、同位体希釈アプローチの適用は、同位体が多くなった分析物の有効性と費用により制限されている。

3.2.2 添加

かなり一般的に適用された、それほど高価ではない好都合な手段は、添加として加えた分析物の回収率を別に試験して推定することである。もし、マトリックスブランク（効果を持つ分析物を含まないマトリックス標本）が利用可能な場合、分析物をその中に添加することが可能であり、その回収率は規定の分析手順を適用後に測定することができる。もしどのマトリックスブランクも利用可能ではない場合、添加は、未添加試験試料と併行して分析された通常の試料に加えることが可能である。これらの2結果の相違は、既知量と比較することが可能な付加分析物の回収部分である。このタイプの回収率推定は、ここでは『代理回収率』と呼ばれる（付加分析物は、天然分析物の代理物質として作用する）。これは標準添加方法と類似している。それは、同位体で修飾された分析物が遭遇する問題、即ち、付加分析物は天然分析物との有効平衡に達していない可能性があるという問題と同様の問題に悩まされる。付加分析物が、天然分析物のようにきっちりとはマトリックスと結合していないならば、代理回収率は、天然分析物の回収率に対して高くなる傾向になると予想される。その状況は、補正分析結果において負の偏りに繋がると予想され

る。

3.2.3 内標準

回収率推定のために使用される代理物質の第三のタイプは、内標準である。回収率試験において内標準法が使用される場合は、代理物質は分析物とは化学的に異なる物であり、それ故、同じ化学特性を持つものではないと考えられる。しかし、内標準は、分析物と化学的に親密な関係を持つように選択されると考えられる。従って、最も高度な実行可能なそれらの化学的動向を代表している。内標準は、例えば、同じマトリックス中で測定される分析物の数が多く、限界回収率試験が個々の分析物に関してそれぞれ実行不可能と考えられる場合の回収率推定において使用されると予想される。実用性に対する問題は、数多くの分析物取扱い費用が超過することである。分析物によって（例えば、新規動物用医薬品残留、又は代謝物）は、純物質として利用可能ではないものもあると考えられる。内標準が、状況によっては最も費用効率のよい方法と思われる一方で、内標準はよくても代理物質として添加することよりは技術的に劣っている。なぜならば、その化学的特性は、分析物の化学的特性と同一ではないからである。内標準に基づく回収率推定の使用により、両方法における偏りを結果として得ることが可能であると考えられる。内標準は、他の目的でも使用されることが予想される。

3.3 マトリックス不一致

1つのマトリックスに関して回収率の値が推定され、別のマトリックスに関して適用される場合は、マトリックス不一致が発生する。マトリックス不一致の影響は、上記で考えられる事柄に加えて、回収率での偏りとして明らかに表れると考えられる。2つのマトリックスがそれらの化学的性質において著しく異なる場合は、その影響はとて深刻になると考えられる。しかし、マトリックスが適度に適合している（異なる種類の野菜を2つ言ってみること）もしくは、名目上同一である（例えば、2つの異なる種の牛肝臓）場合でも、分析化学者は、回収率はまだ適切であるという論拠薄弱な推定を強いてする可能性がある。これは、明らかに回収率及び回収率補正結果において不確定性を増加させると思われる。マトリックス不一致は、原則的には、分析されたそれぞれ別の試験物質に関する回収率試験によって（例えば添加により）回避可能となる。しかし、その様なアプローチは、費用・便益の基準から実行不可能なことがあり、そのため、各分析操作における代表的な試験物質が回収率測定に使用されている。

3.4 分析物濃度

代理物質または天然分析物の回収率は、この時点までは、その濃度とは関連しないように取り扱われてきている。これは、低濃度では、厳密には真ではないように思われる。例えば、分析物の一部が表面上で不可逆的に吸着されることにより、回収不可能なこともある。しかし、分析物のある特定の濃度で起こることが予想されることではあるが、一度吸着部位がすべて埋まれば、高濃度では、更に損失することが無いように思われる。それ故回収率は、濃度に比例していないと考えられる。このような状況は、分析方法のバリデーション中に調査すべきであるが、完全な試験は、特別な仕様に関して時間を費やしすぎる可能性がある。

4 回収率情報は、測定補正のために使用すべきか。

一見したところ、有力なケースは、回収率の補正結果または未補正のままにしている回収率のいずれかに寄与することができる。しかし、これらの明示的な議論に関わらず、分析化学者は、しばしば、規定実施法やそれらの適用領域における文書化された手順を遵守する義務がある。ここで挙げられた議論は、必ずしもすべての状況に合っているわけではない。

4.1 補正に関する議論

- 分析科学の目的は、目的に適合した不確定性を持つ天然分析物の真の濃度の推定値を得ることである。
- 著しく低い分析物の回収率が修正された場合のみ、真の濃度を推定することが可能である。
- 回収率が低いことによる未補正の偏りは、結果が、普遍的に比較可能ではなく、移動可能ではなく、それ故、相互理解を裏付けることには適合していないことを意味する。
- 提唱された補正方法は、内部標準法と同位体希釈のような完全に容認できる分析技術と同一構造であり、それ故原則的には疑問視されない。
- しかし、不確定性によっては、必然的に補正率と関連しているものもある。また、その不確定性は、推定され、最終結果に関して結合不確定性(combined uncertainty)に組み込まれることが可能である。

4.2 補正に対する議論

- 代理物質に基づいて推定された回収率は、天然分析物に関して対応する値よりも高くなることもある。結果として起こる補正結果は、なお負の偏りを持つと考えられる。
- 推定された補正率は、その適用性が疑問視されるかもしれない。なぜならば、それがマトリックスや分析物濃度の違いによってかなり違ってくると考えられるからである。
- 推定された補正率は、高い相対不確定性を持つことがよくある。ところが、未補正結果の容量測定や機器測定のみと関連する相対不確定性は、より小さいものとなっている（しかし、もし偏りからの寄与が全く含まれないならば、不確定性は小さい）。従って補正結果の相対不確定性は高くなり、分析の問題をよく知らない者たちの間で不都合な印象を引き起こすために明確にされた場合はかなり高くなる。これは法律の執行において科学の信頼性に順次、影響を与える可能性がある。
- 補正率における単一性から生じる比較的小さい偏差は、分析物の系統的損失というよりは、ランダム誤差を経て、大部分は生じる可能性がある。その状況において、補正により結果の完全不確定性が大きくなることもある。
- 混合物に関して上限を設定している法律によっては、未補正結果が施行目的に使用される可能性のあることの理解に関して枠組みが作られているものもある。

4.3 示性方法及び実験的方法

分析測定は、一般的に目的に適合する不確定性を持った測定量、すなわち分析物濃度の真の値、を推定するために奮闘している。唯一の基盤は、結果が完全に比較できるということである。しかし、この姿勢が『示性』及び『実験的』分析方法[5]に等しく適用されることを認識しなければならない。示性方法において、測定量は試験物質中の分析物の総濃度である。実験的方法では、測定量は、適用された特定の手順によって試験物質中で測定することが可能な「分析物」の濃度であり、その方法に対して結果は追跡可能である。

従って、もし方法が実験的として見なされている場合は、測定された濃度は必然的に真値に近い*ものとなる。その場合、測定量は『抽出可能な』分析物濃度である。

しかし、方法を実験的なものとして見なすことそれ自体は、同等性の要求事項に準拠するための結果を派生していない。実験的結果は、一つの方法プロトコル（同様のプロトコル類ではなく）が特定の測定に使用されている場合のみ、特定の分析部門全体に渡って「同等」であると思われる。方法が規定により固定もしくは特定されている場合は、部門によってはそのような一つの実験的方法プロトコルを広く用いる所もある。しかし、方法論が絶え間ない進化を受けやすく、一つのプロトコルが利用可能でない部門が多い。そのような状況では、回収率補正結果のみが等しいと考えられる。

5. 回収率の推定

欠点のない回収率推定のための一般的で適用可能な手順は存在しない。しかし、理想的な手順が使用される『思考実験』を実施することは可能である。これにより、現実の手順に関する標準点を得ることができる。この理想手順において、確定分析方法、すなわち、分析物を回収率の損失がなく、完全に偏りのない方法によって測定することが可能な方法が、利用可能である。その方法は、定期分析での使用には資源集約的過ぎるが、不完全な回収率を持つ代替定期方法が存在する。定期的方法で得られた回収率は、多くの典型的な試験物質のセット、すなわちマトリックスの要求された範囲をカバーするセット、及び分析物濃度を分析するための両方の方法を用いて推定される。これにより、考えられるあらゆる状況に対する定期方法での回収率（及び不確定性）を求めることができる。

実際には、標準に関して利用可能なそのような確定方法は存在しないかもしれない。従って、標準物質もしくは代理試験は、回収率の推定に使用されなければならない。しかし、標準物質はほとんどなく、資源不足により、代理物質の使用による回収率推定に用いることができる試験物質の範囲が制限される。付随して、代理物質の使用それ自体において、回収率推定に対する不確定性が増加する。なぜならば、天然分析物のある割合を占める部分では、共有結合的に、またはそうでなければ強くマトリックスに結合していて、そのために回収されないのかどうかを測定することが不可能であると考えられるからである。

この問題を扱うために一般的に使用される方針は、分析方法バリデーションの過程に回収率を推定することである。回収率は、資源が許す限り、適切なマトリックス及び分析物濃度の幅広い範囲に渡り測定される。これらの値は、続いて用いられる分析方法の使用中に適用するために保持される。その仮定を正当化するために、方法のすべての定期操作には、内部品質管理として作用するための標準物質（または添加試料）が含まれていなければならない。これにより、分析システムが、回収率の元の推定が無効になると思われるほど著しい変化をしていないことが保証される。

そのため、資源の不足によりそれらを実際実施することが妨げられたとしても、以下のポイントを考慮することが要求事項として提案される。

* 近いが、真値と同一ではない。試験施設によって、系統誤差を導入しながら、多少異なるようにプロトコルを実施する可能性があり、また、併行精度（ランダム）誤差の寄与もある。

5.1 代表的な回収率試験

方法が適用されると思われるマトリックスタイプの完全な範囲は、分析方法バリデーションに関して利用可能でなければならない。更に、各タイプの数例を、そのマトリックスタイプに対する回収率（不確定性）の正常範囲を推定するために使用しなければならない。もし物質の履歴が分析物の回収率に影響を与えることが予想される場合（例えば、技術的過程もしくは、食品の調理）は、過程の異なる段階での標本を手に入れなければならない。もしこの範囲がバリデーションで包括することができない場合は、回収率を使用する際にマトリックス不一致と関連して特別不確定性が伴うと考えられる。その確定性は、経験から推定しなければならないこともある。

分析物濃度の適切な範囲は、技術的及び経済的に可能である場合は調査しておくべきである。なぜならば、分析物の回収率は濃度依存性である可能性があるからである。異なる濃度でマトリックスに分析物を添加することを考えてみなさい。非常に低レベルでは、分析物はマトリックス上の部位の限られた数のみにおいてかなり化学吸着される、または、分析物の表面上に不可逆的に吸着される可能性がある。この濃度での回収率レベルは、ゼロに近いかもしれない。分析物がそのように吸着されるよりも多くなる、それより多少高いレベルでは、回収は部分的であると考慮される。吸着された分析物が全分析物のほんのわずかな割合となるかなり高濃度においては、回収率は効率的に終了する。分析化学者は、これらの濃度範囲の全てに渡る回収率について、情報を得る必要があると考えられる。完全な適用範囲がない場合は、例えば規定制限のような、分析物のいくつかの臨界レベルで回収率を推定することが適切であると考えられる。他のレベルでの値は、ここでも不確定性が付随するが、経験により推定されることが考えられる。

マトリックスブランクに添加が適用された場合は、全範囲の濃度を都合良く考えることが可能である。天然分析物の濃度が認められる場合、加えられた添加物質は、少なくとも代理回収率において比較的大きな不確定性を被ることを避ける程度に大きくなければならない。

5.2 内部品質管理

内部品質管理（IQC）の原則と適用は、別に記載されている[3]。IQCの目的は、その使用中に分析システムの性能が事実上不変のままであることを保証することである。（特別分析に対するものとは対照的に）定期分析に適用するIQCにおいて、統計学的管理の概念は重要である。回収率に適用される場合、IQCには考慮する必要のある特殊な特徴がいくつか存在する。回収率のこのIQCは、使用される管理物質のタイプにより2つの明瞭な方法で対処可能である。

- (a) マトリックスが適合した標準物質は、管理物質として使用することが可能である。この物質に関する回収率と、その日間精度の変動性に関する最初の推定は、分析方法バリデーション時に決定される。それに続く定期操作ではまさしく通常の試験物質のようにその物質は分析され、その値は管理図上（もしくは、数学的相当量）にプロットされる。操作に関する結果が管理されている場合、回収率のバリデーション・時間推定は、操作に関して妥当であると見なされる。もし結果が管理外である場合は、更に調査が必要で、それにより、必然的に操作結果の棄却に繋がる、もしくは、回収率の再検査が必要と可能性がある。操作の長さ、分析物濃度の範囲等によって、数種の管理物質を使用することが必要なこともある。
- (b) 添加物質は、品質管理にも使用することができる。いつものように、分析方法バリデーション中に平均回収率及びその日間精度の変動性の最初の推定がなされ、管理図の作成に使用される。物質の安定性により、二つの異なるアプローチのうちどちらかを定期分析に使用することができる。(a)一種類の長期管理物質（もしくはそのような物質数種）は定期的操作毎に使用するために調製することが可能である、または、(b)操作に関する試験物質の全もしくはランダム選択されたものを添加することが可能である。

る。どちらの例においても、代理回収率を管理図上にプロットする。回収率が管理下の状態にある一方で、それは、一般的に試験物質に適用できると見なされる。2つの代替方法のうち、後者（実際の試験物質を含む）が、恐らくより代表的であるが、より要求が多いと思われる。

IQC の役割に関して（適切であると見なされている場合）回収率の簡易推定と混同される傾向がある。IQC 結果は、分析過程が管理された状態のままであることを点検する手段としてみなされるのみであるのがよい。分析方法バリデーション時に推定された回収率は、通常、それに続く管理内操作への適用に関して、より正確である。なぜならば、より多くの時間をそれらの典型的レベル及び可変性の試験に費やすことが可能であるからである。もし回収率を補正するためにリアルタイム添加が採用される場合、これは、標準添加によるキャリブレーションの種類により近いものである。

6. 報告回収率における不確定性

不確定性は、回収率情報の推定及び使用に対するアプローチを定義する際の、キー概念である。確立されたままの（記載時における）不確定性の推定において、かなり実用的なポイントが存在するが、不確定性の原則は、回収率問題を概念化する際の貴重なツールである。不確定性の定義、キー標準、及び拡張された議論を添付資料に記載している。

分析手順において分析物の損失が生じた場合は、それぞれを考慮するために2つの不確定性が必要である。まず、測定のみに関連する不確定性 u_x 、すなわち、重量測定、容量測定、機器測定及び校正誤差によるものである。その相対不確定性 u_x/x は、分析物濃度が検出限界に近くない限りは、低くなることが予想される。二番目に、推定回収率 R に関する不確定性 u_R が存在する。ここでは、相対不確定性 u_R/R は、多少大きいと考えられる。もし生の結果が回収率に関して補正される場合、 $x_{corr} = x/R$ （即ち、補正率は、 $1/R$ ）が得られる。 x_{corr} に関する相対不確定性は次式で求められる。

$$\frac{u_{corr}}{x_{corr}} = \sqrt{\left(\left(\frac{u_x}{x}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2\right)}$$

またそれは、 u_x/x よりも大きいことが必要であり、また、かなり大きいことが予想される。それゆえ回収率補正は、一見して実質的には、測定の信頼性を低下させているように思われる。

そのような認知は不正確である。もし方法が実験的と見なされている（また、これが上記で見てきたような比較性に関連する欠点を持っている）ならば、 u_x が適切な不確定性となる。方法が示性で見なされていて、分析物の損失による偏りが補正されていない場合は、実際の不確定性の推定 u_x' には、偏りを記述している用語を含めなければならないと考えられる。それ故、 u_x'/x は、少なくとも u_{corr}/x_{corr} と比較可能であり、それよりも大きいことさえある可能性がある。

本トピックは添付資料中でより詳細に展開している。

6.1 回収率における推定不確定性

ここに提示した回収率の不確定性推定へのアプローチは、必然的に一時的で、詳細な試験が利用可能になった際には、迅速に入れ替えることが期待されると思われる。重要な原則は次の通りである。

- (a) 回収率及びその標準不確定性は、両者とも分析物濃度に依存している。これはいくつかの濃度レベルでの試験を必要とすることもある。本セクションに続くコメントは、単一の濃度レベルに適用される。
- (b) 主な回収率試験は、方法がバリデートされている分類において含まれるマトリックスの全範囲を包括しなければならない。もし分類が厳密ならば（例えば、牛肝臓）、そのタイプの多種多様な種について、実際に遭遇するように思われる変化を説明するために（例えば、性別、年齢、品種、貯蔵期間等）試験しなければならない。恐らく、回収率推定には、少なくとも 10 種類の多様なマトリックスが必要である。これらのマトリックスに渡る回収率の標準偏差は、回収率の標準不確定性の主要な部分として見なされている。
- (c) もし一部の天然分析物が抽出されないことを疑問に思う基盤が存在するならば、代理物質により推定された回収率は偏ることが予想される。その偏りを不確定性量(uncertainty budget)への寄与とともに推定しなければならない。
- (d) もし方法が、そのバリデーションのマトリックス適用範囲外で使用される場合は、バリデーション時の回収率試験と、分析時の試験物質との間でマトリックス不一致が生じる。これにより、回収率の値において余分な不確定性が生じる結果となる可能性がある。この余分な不確定性を推定することには、問題が存在する可能性がある。恐らく、新規マトリックス中の回収率を推定し、またその不確定性を別の試験で推定することが好ましいと考えられる。

7. 結論

回収率情報を取り扱う可変的な実施法は、データの不等価の重要な原因である。その効果を軽減するために、適切な補正率の適用後に分析データを報告する実施法が、通常奨励されなければならない。しかし、強制限界が、適用された補正率の存在しないデータに基づく場合、「生」データを報告する現在の状況は、今後も続くことが予想される。

回収率実験及びそれらの結果の詳細な記述は、適切に記録されなければならない。もし、試験物質中の天然分析物の一部がその分析手順では、抽出できないことが既知、もしくは疑わしい場合は、その手順は「利用可能な」分析物のみ測定するとして認定されなければならない。そのような認定は、分析証明書においてなされなければならない。有効な補正は、全くされないか、回収率モデルが示されていない「結合」分析物に関して試みられなければならない。

分析測定での回収率決定に関して、2 重の役割、すなわち (a) 品質管理過程、及び (b) 回収率の値を導き出すことの役割、があることを認識しなければならない。後者のアプリケーションにおいて、より広範囲に渡る詳細なデータが必要である。

8. 勧告¹

以下の勧告は、これらのガイドラインにおいて回収率情報の使用を考慮に入れてなされている。

¹ IUPAC、ISO、および EURACHEM は、これらのガイドラインの科学的原則及び推奨を承認する。AOAC INTERNATIONAL は科学的原則を承認するが、分析結果が一般的方針として回収率を補正しなければならないことには同意していない。

1. 回収率補正を行わなかった主要な理由が無い限りは、結果に関して回収率補正を行うこと。そのような理由には、未補正データを使用して制限（法定もしくは契約的）が設定されている場合、または回収率が単一性(unity)に近い場合のような状況が含まれると考えられる。しかし、報告される際に全てのデータが、(a)回収率補正が適用されてきたかどうかについて明確に確認しなければならず、また、(b)回収率補正が適用されている場合は、補正量とそれが導かれた方法を報告書に記載しなければならないことが最大に重要である。これにより、データセットを直接的に比較することが容易になると思われる。補正機能は適切な統計学的考慮に基づいて設定されなければならず、文書化され、保管され、依頼者がいつでも利用できなければならない。
2. 回収率の値は、回収率が報告されたり、結果が補正されたりしたがどうかに関わらず、測定値が補正值に変換できるように、または、その逆ができるように、分析方法バリデーションの一部として設定されなければならない。
3. 回収率の使用が正当化される際には、その推定方法を方法プロトコルで指定しなければならない。
4. 回収率に関する IQC 管理図は、分析方法バリデーション中に設定され、すべての定期分析で使用されなければならない。管理範囲外で回収率の値が求められる操作は、容認可能な偏差を再検討する中で、再分析を考慮しなければならない。もしくは半定量的として結果を報告しなければならない。

9. 参考文献

1. "Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method Performance Studies", W Horwitz, *Pure Appl. Chem.*, 1988, **60**, 855- 864, revised 1995, **67**, 331-343.
「方法性能試験の設計、実施及び解釈に関するプロトコル」 W Horwitz, *Pure Appl. Chem.*, 1988年, **60**, 855- 864, 改訂 1995年, **67**, 331-343.
2. "The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories", M Thompson and R Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1993, **65**, 2123-2144. (Also published in *J. AOAC International*, 1993, **76**, 926-940.
「(化学) 分析試験施設の熟達度試験に関する国際的にハーモナイズされたプロトコル」 M Thompson and R Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1993年, **65**, 2123-2144. (*J. AOAC International*においても1993年に出版された。) **76**, 926-940.
3. "Harmonised Guidelines For Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories", Michael Thompson and Roger Wood, *J. Pure & Applied Chemistry*, 1995, **67**, 49-56.
「分析化学試験施設における内部品質管理に関するハーモナイズされたガイドライン」 Michael Thompson and Roger Wood, *J. Pure & Applied Chemistry*, 1995年, **67**, 49-56.
4. "Quality Assurance for Analytical Laboratories", edited M. Parkany, Royal Society of Chemistry, London, UK, 1993.
「分析試験施設に関する品質保証」, M. Parkany編集, Royal Society of Chemistry, ロンドン, イギリス, 1993年.
5. "Sense and Traceability", M. Thompson, *Analyst*, 1996, **121**, 285-288.
「感覚とトレーサビリティ」, M. Thompson, *Analyst*, 1996年, **121**, 285-288.

添付資料： 報告回収率における不確定性

不確定性という原則は、回収率問題を概念化する際に役立つツールである。本添付資料の主な目的は、これらの原則を示唆することである。回収率における不確定性の推定は、まだ詳細に検討する必要がある。

不確定性の定義

測定不確定性は ISO [1, 2] では、

「測定結果と関連し、測定量に合理的に起因する可能性のある分散を特徴づけるパラメータ」

として定義されている。また、「パラメータは、例えば、標準偏差（またはその所定の倍数）、もしくは規定信頼度の半値幅であると考えられる。」と注意書きが書かれている。ISO 指針は、このパラメータは、

「標準偏差として表現された測定結果の不確定性」として定義され、 u として示された標準不確定性、もしくは、

「測定量に起因する可能性のある値の分散の大きな割合を包含することが期待されることもある測定結果について間隔を定義している量」として定義され、 U として示されている拡張不確定性のどちらかとして、報告されなければならないことを推奨している。拡張不確定性は、標準不確定性に、実際には、典型的に 2~3 の範囲であるカバレッジ・ファクタをかけることにより求められる。

測定量の定義

測定量の明確な定義は、不確定性推定、及びその関連性、もしくはそうでなければ回収率の値にとっても重要である。ここで最も重要な問題は、測定量は試料マトリックス中に存在する実際の物質（示性方法）であるか、再現可能な反応であるか、そうでなければ、基本的に比較目的のために設定された任意の手順（実験的方法）であるかである。

回収率と不確定性

回収率 $R = c_{obs}/c_{ref}$ は、分析手順の適用により得られた観察された濃度（または量） c_{obs} の、標準レベル c_{ref} で分析物を含んでいる物質に対する割合である。 c_{ref} は、(a) 値の認定された標準物質、(b) 別の規定方法で測定したもの、または(c) 添加による追加で定義されたもの、であると考えられる。完全な分離 R は、正確に単一性であると思われる。実際、不完全な抽出などの状況により、理想とは異なる結果になることがよくある。従って、分析システムに関して、回収率 R を推定することは、分析方法をバリデートする際のよい実施法である。そのような実験において、回収率は単一性からの著しい逸脱に関して試験することが可能となる。そのような試験では、ある信頼度において、「 $|R-1|$ は u_R より大きいのか、 R の測定における不確定性か？」が考えられる。表 2 は、測定回収率における不確定性の出所をいくつか示している。実験者は、その際方法の有意検定を実施する。

$|R-1|/u_R > t$: R は 1 から有意にはずれている。

$|R-1|/u_R \leq t$: R は 1 から有意にははずれていない。

ここで、 t は、実際の有意性を許容している「カバレジ・ファクタ」、もしくは試験が完全に統計学的である場合、信頼度 $1-\alpha$ での Student の t の値と関連している $t_{(\alpha/2, r-1)}$ のいずれかに基づいた危険率である。

そのような実験に続いて、主に回収率 R の利用により識別された 4 つのケースに区別することが出来る。

- (a) R は 1 と有意に異なることはない。補正は全くなされない。
- (b) R は 1 と有意に異なり、 R に対する補正がなされる。
- (c) R は 1 と有意に異なるが、操作上の理由により、 R に対する補正がなされない。
- (d) 実験的方法を適用中である。 R は、任意に単一性として、また u_R はゼロとして見なしている（明らかに、繰り返された、または再現された結果における回収率に、ある程度の変動が認められるが、その変動は、方法の直接推定された精度に組み込まれている）。

不確定性は、上記のケースのそれぞれについて以下のように取り扱われると思われる。

- (a) R は 1 と有意に異なることはない。実験により、回収率に関して、続いて結果を調整する理由が認められていない。回収率における不確定性が、重要でないと考えられる可能性はある。しかし、実験により $1-ku_R$ と $1+ku_R$ 間の回収率の範囲を区別することはできていない。要するに、全不確定性を計算する際に考慮されなければならない回収率についての不確定性が、まだ存在することになる（代替の見解としては、 $R=1$ の補正率は全体的に適用されたが、値が正確に単一性であるのか、実験者が断言できないということである）。従って、 u_R は不確定性量を含むと考えられる。しかし、それを二重に含んではならない。回収率の不確定性は、精度の推定において自動的に含められることが良くある。
- (b) R は 1 とは異なり、補正がなされる。 R は、明らかに補正結果（すなわち、 $c_{corr} = c/R$ 、ここで、 c は、不確定性 u_c を持つ生の結果である）に含まれるため、 u_R は不確定性量に含まなければならないことは明らかである。これは、以下の式で求められる補正結果に関する結合不確定性 u_{corr} へと繋がっていく。

$$\frac{u_{corr}}{c_{corr}} = \sqrt{\left(\left(\frac{u_c}{c}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2\right)} .$$

u_{corr} は、拡張不確定性 U を得るために、 k (通常 2) を掛けていると思われる。

- (c) R は 1 とは異なり、補正は全くなされない。示性方法において、既知の系統的効果に関して補正を行わなかったことは、測定量の可能性のある最善の推定を得ることと矛盾している。この場合、回収率を全不確定性を算出する際に考慮することは簡単なことではない。もし R が単一性と大幅に違うならば、不確実性 u_R がかなり増加しない限り、測定量を含む値の分散は適切に表現されない。既知の系統的効果に対する補正 b が行われなかった場合、よく採用される簡単で実用的なアプローチは、 b をゼロと仮定して U_c が算出されるならば、最終結果に関する拡張不確定性を (U_c+b) に対し増加させることである。従って、回収率に関して、 $U = U_c + (c/R - c)$ となる。この手順により、悲観的な全不確定性が求められ、ISO の推奨する、標準偏差として全不確定性を扱う原則から逸脱する。

その代わり、分析者がその相違は実際の使用においては重要でないと判断したため、回収率に対する補正がなされなかった場合、有意検定では、 u_R より大きい値を使用していたはずであるため、 u_R を増やした後で、ケース(c)は、ケース(a)と同様に取り扱われると思われる。これは要するに、有意検定において t が危険率である場合、 $|1-R|/t$ として u_R を推定することである。回収率におけるこの増幅不確定性(amplified uncertainty)は、(b)のケースとして含まれなければならない。これは、 u_R が、 $|1-R|$ 以上である場合のみ、通常有意であると考えられる。

どちらの方法でも不確定性の推定を求めることができる一方で、どちらの方法とも、測定量の最善の推定を求めるための結果の補正をしていないことから生じる同様の欠点を持っている。どちらも不確定性が過大となり、結果付近で見積もりした範囲には極端に近い測定量(通常、上端)のみが含まれ、残りの範囲は有意な確率を持った値を含むようには思われない。

70%台の回収率に関して、追加的な不確定性の寄与(カバレッジ・ファクタ適用前)は、結果の20%近いことが予想される。これは、無視されている回収率補正の大きさを考えると、明らかに理屈に合わないものではないが、実質的な回収率補正を無視して報告された不確定性に関する結果を強調している。

従って、顧客が推定上の示性方法から得られた結果によって振り回されることがなければ、明確な選択が存在する。どちらの回収率も補正しなければならないか、もしくは実質的に大きい不確定性を引用しなければならない。

最後に、上記の議論は、結果とその不確定性が実際の適用範囲上で得られ、そのように報告されたという状況に関連していることに注意しなければならない。分析者が結果の(例えば、その値は、「…以上」と記述することにより)解釈を提示した場合、実例は考慮されていない。この種の解釈において、分析者の回収率と全体の実験的な不確定性の専門知識は、解釈において考慮され、また、それに応じて回収率や不確定性は必ずしも報告する必要はなくなると予想される。

参考文献

1. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement', ISO, Geneva, 1993, (ISBN 92-67-10188-9)
測定における不確定性の表現に関する指針、ISO、ジュネーブ、1993年 (ISBN 92-67-10188-9)
2. *International Vocabulary of basic and general standard terms in Metrology*. ISO, Geneva, Switzerland 1993 (ISBN 92-67-10175-1)
度量衡における基礎的及び一般的標準用語の国際用語集、ISO、ジュネーブ、スイス、1993年 (ISBN 92-67-10175-1)

表 1

分析化学における不確定性の出所

1.	測定量の不完全な定義（例えば、測定される分析物の正確な形態を特定しないこと）。
2.	サンプリングー測定サンプルは、定義された測定量を表現しない可能性がある。
3.	不完全な抽出及び／または測定量のプレ濃度、測定試料の汚染、妨害成分及びマトリックス効果。
4.	測定手順に関する環境条件の影響の不適切な知識、または環境条件の不完全な測定。
5.	試薬またはブランクの相互汚染または、汚染。
6.	類似の測定機器を読み取る際の人の偏り。
7.	おもり及び容量装置の不確定性。
8.	測定機器分解能または、閾値の識別。
9.	測定標準及び標準物質を測定するための指定値。
10.	定数値及び外部の出所から得られ、データ換算の計算式において使用された他のパラメータ。
11.	測定方法及び手順に組み込まれた近似値と推定値。
12.	外見上同一の条件下での測定量の繰り返し行われた観察における変動。

表2. 回収率推定における不確定性の出所

1	回収率試験の併行精度
2	標準物質値における不確定性
3	付加添加量における不確定性
4	付加添加による天然分析物の説明が乏しいこと
5	実験的なマトリックスと遭遇した試料マトリックスの完全な範囲との間の一致が乏しい、もしくは制限されていること
6	回収率における分析物／添加物レベルの効果と、添加物質もしくは標準物質の分析物レベルと試料中の分析物レベルの不完全な一致。