

検出限界をノイズの確率論的性質から推定する

2022年4月4日 林 譲

本稿の目的は機器分析における検出限界と精度を平易に解説することであり、第1章では、分析機器のノイズが測定値の精度に与える影響を考察し、第2章では、有機酸のHPLC分析を例に挙げて、検出限界の定義と考え方を説明する。主眼はノイズの確率論的性質だけから検出限界と精度が求められる理論の根拠を明白にすることにある。この理論の利点は多くの物質、時間、エネルギーを要するくり返し測定無しに、精度と検出限界を求められることにある。

1 ノイズの確率論的性質から検出限界が求められる理由

1.1 精度の定義と解釈

精度は一つのクロマトグラムのノイズとシグナルから求められると言うと、「それは精度ではない」あるいは「それは不可能である」と言う人々がいる。これについて議論してみよう。

「それは精度ではない」との主張は国際規格などの定義を根拠としている。次に示す精度は日本薬局方の「分析法バリデーション」[1]とJISの「測定方法及び測定結果の精確さ」[2]における定義の練り合わせである。

精度 (precision) とは、同一試料をくり返し分析して得られる一連の独立な分析結果 (測定値) が互いに一致する程度であり、その悪さ (imprecision) を指標とし、測定値の標準偏差 (standard deviation, SD) または相対標準偏差 (relative SD, RSD) として記述される。SD または RSD が大きいと、精度が低いという。独立な分析結果とは、ある測定値が過去の測定値の影響を受けない、つまり、測定値どうしが互いに無関係であることを意味する。くり返し分析の条件は三つのレベルがあり、併行精度 (repeatability)、室内再現精度 (intermediate precision)、室間再現精度 (reproducibility) という。併行精度とは、試験室、試験者、測定装置、実験器具および試薬のロットなどの分析条件を一定に保ち、均質な検体から採取した試料を短時間にくり返し分析するときの精度である。併行精度は三つのレベルの中で最も精度が高い。本稿は併行精度について話を進める。

上の定義には「くり返し分析して得られる一連の独立な分析結果」とあるので、「くり返し測定から得られる複数の測定値から計算するSDが精度である」と解釈できる。これはこれで正しいのだが、この文章をもう少し読んでみると、「分析結果 (測定値) が互いに一致する程度」とある。つまり、精度は「複数の測定値」の属性であり、この属性がSDで数値的に記述されるのである。逆に考えて、若しSDが求められれば、この数値自体が分析結果の属性である「互いに一致する程度」を表すのである。

別な言い方をすると、上の定義は「くり返し測定を行わなければ、精度は分からない」あるいは「くり返し測定が精度を求める唯一の方法である」とは読めない。その焦点は実験の方法ではなく、実験結果の属性に絞られている。サイコロ実験を考えてみよう。サイコロの1から6の目が出る確率がどれも1/6であるとき、そのSD (≈ 1.7078) を計算する方法は初歩的な確率論の教科書にはたいがい載っている。この1.7078が「一連の独立な実験結果が互いに一致する程度」という属性を表すのである。実際にサイコロを振らなくても、その実験結果の精度は知れるのである。

「それは不可能である」との主張は分析誤差の発生源に言及している。誤差は分析過程のあらゆるステップから発生し、すべての誤差は最終目的量に収斂する。たとえば、液体クロマトグラフィー分析に

においては、サンプリング、試料調製、試料注入、カラム、ポンプ、バックグラウンドノイズなどから発生する誤差が測定値 (y) のバラツキとして反映され、検量線によって最終目的量 (x) のバラツキとして変換される。このような誤差要因の多様性のため、通常は、ノイズだけから精度が推定できることはあり得ない。したがって、本稿の主張である FUMI 理論 (Function of Mutual Information) ——くり返し測定なしに、一つのクロマトグラムのノイズとシグナルから精度と検出限界を推定する理論——の適用範囲は、分析対象物質の濃度が低く、誤差の主原因がノイズである場合に限定されている。

くり返し測定を実施すれば、どのような分析法の SD でも必ず計算できる。一方、FUMI 理論の SD 推定は条件付きである。精度はくり返し測定からも、FUMI 理論からも求まる。正しい SD が求まるのならば、どのように求めたとしても、その SD は分析の精度を正しく表す。蛇足ではあるが、実験結果を事前に予測することは科学の本質の一つである。

1.2 分析誤差の数学的な記述

分析結果の誤差あるいは精度は測定値 y と最終目的量 x のどちらにも現われる。本稿では、誤差の検討は、バラツキが直接観測される y から行う。

誤差は分析の各ステップから生じ、それらは最終的に測定値 y に集積することを数式で表してみよう。まず、全体の誤差、つまり、y の誤差はそれぞれのステップの誤差の足し算となると仮定する：

$$(y \text{ の誤差}) = (\text{サンプリングの誤差}) + (\text{調製の誤差}) + (\text{注入の誤差}) + \dots + (\text{ノイズの誤差}) \quad (1)$$

式 (1) 右辺の各項の単位はすべて左辺の y の単位と同じでなければならない。y をピーク面積測定値、その単位を Absxs (吸光度×秒) としよう。すると、(サンプリングの誤差) はサンプリングが面積測定値を変動させる度合いと解釈できる。他の誤差も同様である。つまり、各ステップの誤差の大きさを測定値 y の単位で量るのである。

式 (1) が成り立つ場合、全体の誤差 (y の誤差) のバラツキは、誤差の伝播則により、次のように、分散 (Variance, (SD)²) で表される：

$$(y \text{ の SD})^2 = (\text{サンプリングの SD})^2 + (\text{調製の SD})^2 + (\text{注入の SD})^2 + \dots + (\text{ノイズの SD})^2 \quad (2)$$

全体の誤差が各ステップの誤差の和となる場合、全体の誤差の分散は各ステップの誤差の分散の和で表される。1 回の測定の誤差は式 (1) で表され、測定毎に異なるが、式 (2) の分散はすべての測定結果を代表する数値である。式 (2) の両辺の SD の単位はすべて同じ (Absxs) である。

式 (2) が成り立つためには、各ステップに起因する誤差が確率的に独立であるという条件が必要である。確率的に独立とは、チンチロリンの三つのサイコロのように互いに無関係な目を出すことを意味する。定量分析操作の各ステップから生じる誤差が確率的に独立であることは、各ステップの操作が物理的に互いに独立であることから納得できるだろう。

SD と分散の単位の違いについて述べる。確率変数 y の分布が正規であり、その平均がゼロ、SD が σ であれば、y が $\pm 2\sigma$ の範囲に存在する確率は 0.954 である。この y の範囲は SD で表すが、分散では表さない。なぜならば、y の SD は y の二乗の和の平方根であり (広く知られている SD の統計学的推定式)、その単位は y と同じであるが、分散の単位は y の単位の 2 乗であり、y の単位とは異なるからである。

測定値 y の平均の二乗で式 (2) の両辺を割ると、全体の誤差のバラツキを次のように

$$(y \text{ の RSD})^2 = [(y \text{ の SD}) / (y \text{ の 平均値})]^2$$

$$= (\text{サンプリングの RSD})^2 + (\text{調製の RSD})^2 + (\text{注入の RSD})^2 + \dots + (\text{ノイズの RSD})^2 \quad (3)$$

相対標準偏差 (RSD = SD ÷ 平均) で表すことができる。(サンプリングの RSD) = (サンプリングの SD) ÷ (y の平均値) であり、他の項も同様である。RSD は無単位であることに注意すべきである。

全体の誤差は各誤差の SD² の和としても RSD² の和としても記述できる。次の二項で説明するように、精度-濃度の関係を考察する際、測定値の SD が一定である場合と RSD が一定である場合がある。

1.3 SD 一定の測定誤差：ノイズに起因する誤差

一般的に、測定精度は分析対象物質（分析物）の量 x に依存して変化する。本項では、x とは無関係に、測定値の SD が一定と見做せる例として、ノイズに起因する測定誤差の SD を考察する。

機器分析におけるノイズとシグナルに関する根本的な仮定を次のように設ける。

- ノイズが唯一の誤差原因である場合、ノイズとシグナルは確率論的に独立に発生し、ノイズは測定毎にランダムに変動するが、分析物のシグナルは常に“真の形”を示す。

図 1 に示すように、観測されるピーク（下）は真のシグナル（上）がランダムノイズ（中）の上に乗って出力されるイメージである。真のピークの形は不変であるが、観測されるピークの形はノイズによって変形され、測定毎に異なる。この測定モデルにおいて、測定値をピーク面積とすれば、測定誤差はノイズが作る面積 A(k) であると必然的に解釈される。

ノイズが作る面積 A(k) を次のように定式化する。ノイズ（図 1 の中）を時間あるいはデータポイント i によって変化するランダム過程 Y_i とする（注：添え字無しの小文字 y は測定値である）。データポイント i から k までの Y_i はシグナル領域（図 1 の S）上である軌跡を描く。Z 領域（データポイント 0 と -1、図 1 の Z）上でのランダム過程 Y₀ と Y₋₁ の平均値をゼロレベルとする。領域 S 上で Y_i が作る軌跡がゼロレベルを通る水平線との間につくる面積をノイズが作る面積 A(k) と定義する。

実際のクロマトグラフィーでは、A(k) は正にも負にもなり、平均がゼロの正規分布と見做せる（図 5）。A(k) のヒストグラム（分布）の SD を σ(k) とすれば、式 (3) のノイズの RSD は次のように書ける：

$$(\text{ノイズの RSD})^2 = (\sigma(k) / y \text{ の 平均値})^2 \quad (4)$$

σ(k) は分析物のシグナルの幅 k に依存して変わるが、ノイズはシグナルとは独立であるから、k が一定ならば、σ(k) は分析物の濃度とは無関係に一定である。σ(k) はノイズの確率論的性質によって決まるので [3-5]、分析機器の状態が安定していれば、σ(k) は異なったクロマトグラムから求めても、ほぼ同じである。式 (4) の分母は分析物のピーク面積測定値 y の平均であるから、ゼロにはならない。

低濃度試料の分析において、測定誤差はノイズが作る面積 A(k) であり、A(k) の SD である σ(k) は測定誤差の SD および測定値の SD に相当する。

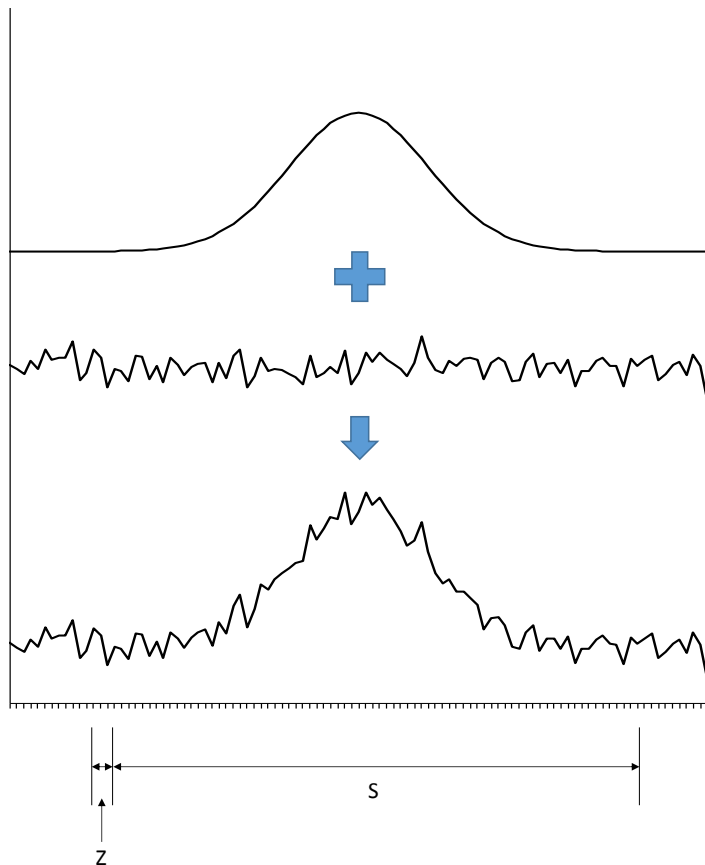


図1 シグナル、ノイズ、シグナル+ノイズ

1.4 RSD一定の測定誤差：注入誤差など

分析物の量とは無関係に、測定値のRSDが一定となる誤差要因はサンプリング、調製などである。本項は、例として、液体クロマトグラフィーのインジェクターを取りあげる。現在広く普及しているインジェクターの注入容量は0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 μL などであり、個々のインジェクターはそれぞれ特有の再現性 ($\text{RSD} = \text{注入容量のSD} \div \text{注入容量の平均}$) を有する。あるインジェクターの「注入容量」のRSDは注入される試料に含まれる分析物の濃度とは無関係であることは明白である——試料溶液の粘度が実質的に変化しないことが前提である。以下の話題は、精度—濃度の関係において、インジェクターの「注入容量」と同様に、注入された分析物の「重量」及び「測定値」のRSDも一定であることである。

検量線が線形 ($y \propto x$) ならば、RSDが分析物の濃度 x とは無関係に一定となる条件は、分母の y の平均だけでなく、分子のSDも濃度 x に比例することである。SDの性質を簡潔に説明するために、SDにおける偏差を y の真の値 \bar{y} (平均) からの偏りと定義し、便宜的に偏差を $\sqrt{(y - \bar{y})^2}$ と記すことにする。

さらに、相対偏差 = 偏差 \div 平均と定義する。

注入容量が10 μL のインジェクターを取りあげよう。このインジェクターの1回の操作で、濃度1 mgL^{-1} の分析物は重量として10ng (注入重量) が注入されるはずである。この時の測定値の平均を20 Abs $\times s$ と仮定しよう (表1を参照)。若し注入容量が+20%だけ変位すれば、1.2倍の容量 (12 μL) が注入され、1.2倍の重量 (12ng) が注入され、1.2倍の測定値 (24 Abs $\times s$) が得られるので、注入容量の偏差は $\sqrt{(12 - 10)^2}$

= 2 μL, 注入重量の偏差は $\sqrt{(12 - 10)^2} = 2 \text{ ng}$, 測定値の偏差は $\sqrt{(24 - 20)^2} = 4 \text{ Abs}\times\text{s}$ となる. 一方, 相対偏差はすべて同じである (表 1) .

分析物の濃度が 10 倍の 10 mgL^{-1} になると (表 1) , 注入容量の絶対量と偏差は変わらないが, 注入重量と絶対量と偏差, 測定値の絶対量と偏差はそれぞれ 10 倍となる. しかし, これらの相対偏差は, 分析物濃度が 1 mgL^{-1} のときと変わりはない. つまり, 分析物の濃度を変えても, 注入容量, 注入重量, 測定値の相対偏差は同じである.

表 1 10 μL インジェクターの 1 回操作における注入の量と偏差の例

分析物濃度	10 μL 注入の変位	偏差 = $\sqrt{(y - \bar{y})^2}$		
		注入容量 (μL)	注入重量 (ng)	測定値 (Abs×s)
1 mgL^{-1}	100 % 注入の絶対量	10	10	20
	120 % 注入の偏差	$\sqrt{(12 - 10)^2} = 2$	$\sqrt{(12 - 10)^2} = 2$	$\sqrt{(24 - 20)^2} = 4$
	120 % 注入の相対偏差	$2/10 = 0.2$	$2/10 = 0.2$	$4/20 = 0.2$
10 mgL^{-1}	100 % の注入の絶対量	10	100	200
	120 % 注入の偏差	$\sqrt{(12 - 10)^2} = 2$	$\sqrt{(120 - 100)^2} = 10 \times 2$	$\sqrt{(240 - 200)^2} = 10 \times 4$
	120 % 注入の相対偏差	$2/10 = 0.2$	$20/100 = 0.2$	$40/200 = 0.2$

今, 変位を+20%に限ったが, SD はあらゆる偏差に対して計算するものである. たとえば, +20%, -20%, +10%などに対しては, 分析物濃度 1 mgL^{-1} に対しての注入重量の偏差は, 試行回数で割ることは省略すれば, $\sqrt{(12 - 10)^2 + (8 - 10)^2 + (11 - 10)^2 + \dots}$ と書ける. 上と同じ考察をすれば, 試料中の分析物の濃度を変えても, インジェクターによる注入容量, 注入重量, 測定値の RSD は同じであることが導ける. すると, インジェクターについては, 次の関係が成り立つ:

- 注入容量の RSD = 注入重量の RSD = 測定値の RSD

これは便利な性質である. 式 (3) より, (注入の RSD) = (測定値の SD) ÷ (測定値の平均) であるので, 試料注入だけに起因する測定値の SD を実験から求めるのは容易ではない. しかし, 式 (3) の注入の RSD はメーカーが提供する注入容量の RSD で代用できるのである.

サンプリングの過程に起因する測定誤差の RSD も分析物の濃度と無関係に一定と考えられる. なぜならば, 試料中の分析物の量が 2 倍になれば, サンプリング後の測定値も, 測定値の偏差もそれぞれ 2 倍になると仮定することは理に適うからである. 調製も同様に考えることができる.

1.5 検出限界がノイズの性質だけから求められる場合

式 (1) で示したように, 測定誤差の原因は多くある. そこで, 測定値 y の RSD を

$$(y \text{ の RSD})^2 = (\text{ノイズ以外の RSD})^2 + (\text{ノイズの RSD})^2 \quad (5A)$$

$$=(\text{ノイズ以外の RSD})^2 + (\sigma(k)/y \text{ の平均値})^2 \quad (5B)$$

と記して、ノイズが測定精度に与える影響を考察しよう。

ノイズ以外の誤差要因が精度に与える影響（ノイズ以外の RSD）よりもノイズの影響（ノイズの RSD）が相当地大きくなければ、検出限界をノイズの性質だけから求めることは不可能である。そこで、先ず、これらの誤差要因の兼ね合いを検討する。分析物の濃度が十分に高く、ノイズはほとんど無いと仮定し、ノイズ以外の誤差、たとえば調製誤差、が測定誤差に等しいと考える。ノイズ以外の誤差の RSD を 30% としよう。30%RSD は検出限界（Detection Limit, DL）の分析物の測定精度であり[3-5]、平均を 100 とすれば、SD が 30 であることを意味する。正規分布は $\pm\sigma$ の範囲に約 68%の要素が含まれるのであるから、この測定値は 100 を中心に 70 から 130 の範囲に 68%が含まれる。これならば、2 倍くらい異なる測定値（=130/70）が得られても不思議ではないだろう。ノイズが無いために、ピークの輪郭は鮮明であるが、測定値がこれほど大きくばらつくのでは、このシステムは定量分析に適しているとは言えない。

では、ノイズ以外の誤差が 10%RSD ではどうだろうか？ 10%RSD は定量限界（Quantitation Limit, QL）の値であり[3-5]、平均値が 100 の測定値では、68%の測定値が 90 から 110 に含まれるので、測定値の違いは高々1.2 倍であると予測できる。

ノイズ以外の誤差が 5%RSD ならば、その分析システムは定量分析としての信頼に十分に足る。平均値が 100 の測定値の 68%は 95 から 105 の範囲にあり、多くの測定値は 1.1 倍違い以下に収まるだろう。

ノイズの影響を、信頼性の高い分析システム——ノイズ以外に起因する測定誤差が 5%RSD——に対して考察する。分析物の濃度を次第に低くしていくと、分析物のピークは小さくなり、相対的にノイズが目立つようになる。これまでの議論により、分析物の濃度とは無関係に、ノイズ以外の RSD は一定（= 5%）であり、ノイズに起因する測定誤差の $\sigma(k)$ も一定と考えられるので、式（5B）により、面積測定値 y が小さくなれば、y の RSD は 5%より大きくなる。精度が QL になるまで分析物濃度を下げれば、

$$(y \text{ の RSD} = 10\%)^2 = (\text{ノイズ以外の RSD} = 5\%)^2 + (\text{ノイズの RSD})^2 \quad (6)$$

と書ける。この式より、ノイズの RSD は 8.7%と逆算できる。この分析システムの実際の測定値の誤差は 10%RSD であるので、ノイズの影響は重大であることが分かる。

この試料を DL まで希釈すれば、測定値の RSD は 30%となり、次の式が成り立つ。

$$(y \text{ の RSD} = 30\%)^2 = (\text{ノイズ以外の RSD} = 5\%)^2 + (\text{ノイズの RSD})^2 \quad (7)$$

この式からは、ノイズの RSD は 29.6%と計算でき、DL の 30%RSD に匹敵することが分かる。DL における測定誤差はノイズが支配的であると言える。

ノイズが測定誤差の主要原因であれば、ノイズの RSD を測定値 y の RSD の近似として使うことができる。つまり、一つのクロマトグラムからピーク的面積 y と幅 k、並びに、ノイズの SD である $\sigma(k)$ が推定できれば、ある任意の濃度における分析物の測定値の RSD を式（5B）から予測できるのである。

まとめると、分析の各ステップに起因する誤差全体の RSD（式（5B）の右辺第 1 項）が 5%以下ならば、くり返し測定無しに、QL または DL 近辺で、測定値の RSD を予測できる。FUMI 理論は $\sigma(k)$ をノイズとシグナルから求める理論であり、TOCO19（Total Optimization of Chemical Operations）がその実践ソフトウェアである。なお、FUMI 理論と TOCO19 に関する参考文献は日本語が[3-5]、英語が[6-9]である。

2 検出限界の理論と実践

2.1 検出の考え方

ある濃度の分析物の検出あるいは非検出を測定結果によって判定するときには、その濃度に対応した測定値ではなく、他の測定値を判定の基準とする。検出限界濃度（DL 濃度）の分析物の検出が目的ならば、検出の判定基準となる測定値は判定限界と呼ばれる。以下、DL と判定限界を説明する。

DL は分析対象の下限であり、測定値のバラツキ（SD）に基づいて定義される。実践的には、正確な測定値の SD を求めることが DL を決定するための最重要課題である。

図 2 は 4 種類の有機酸の HPLC 分析（絶対検量線法，イソクラティック溶離）のクロマトグラムである。一番左はシステムピークであるが、他は有機酸のピークであり、以下では、左から 4 番目のピーク（クエン酸）の精度に焦点を合わせる。測定値の SD はくり返し測定ではなく、1 つのクロマトグラムから TOCO19 により推定する。TOCO19 は全自動解析システムであり、図 2 の測定データからは判定限界と DL が計算され、それぞれの限界シグナルがノイズ上に描画される（図 3 と 4）。

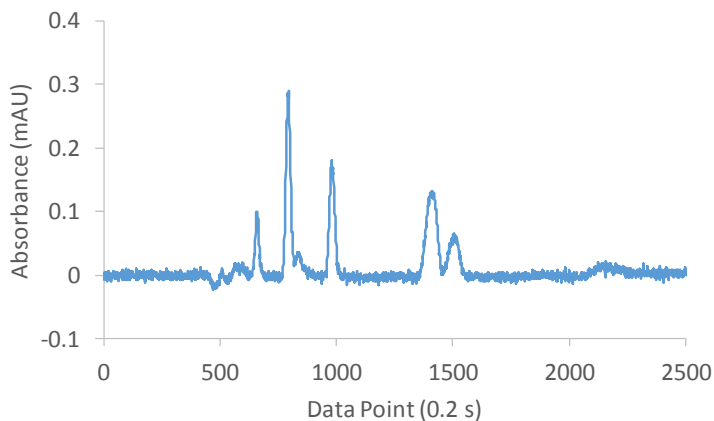


図 2 有機酸分析のクロマトグラム

シグナル（左から）：システムピーク，リンゴ酸，酢酸，クエン酸，コハク酸（それぞれ 10 mg/L）。図 2～5 はすべて FUMI 理論研究所の資料[3]より一部改変して引用した。

図 3 は ISO[10]と JIS[11]の定義に従って求めたクエン酸の DL に関するシミュレーションである。クエン酸の DL (1.74 mg/L) の測定値は図 2 のクロマトグラムのクエン酸ピーク (10 mg/L) の 0.174 倍の面積に相当する。図 3 のシグナルはガウス型ピーク（正規分布）であり、その面積はクエン酸の DL に相当し、その $\pm 3\sigma$ の範囲がピーク幅 $k (= 6\sigma)$ にあたる。図 3 はこのモデルピークと図 2 で実際に観測されたノイズのデータポイント毎の和である（図 1 と同様な描画）。

DL 濃度のクエン酸の測定で観測されるピークの形は測定毎にランダムに変化する。そして、その平均的なピークが図 3 である。測定モデル（図 1）の仮定より、真のピーク形は一定であり、測定毎に変化しないのであるから、図 3 のピークのひずみはノイズによって引き起こされる。ノイズの軌跡——山また

は谷——によって、図3よりも大きなピークも、小さいピークも観測される。

DLシグナルより大きな測定値(面積)に対しては検出、小さな測定値には非検出との判定をする基準を仮に設定してみよう。DL濃度の分析物を含む試料(DLサンプル)をくり返し測定すると、図3のDLピークより面積が小さいピークと大きいピークはどちらも等確率(50%)で観測されるはずである。今の判定基準では、正解(検出)も不正解(非検出)も50%の確率である。これでは、検出方法として心もとない。せめて、95%の確率で検出に成功したい。そのためには、図3のDLシグナルではなく、これよりも小さいシグナルを判定の基準としなければならないことは容易に察しが付くだろう。

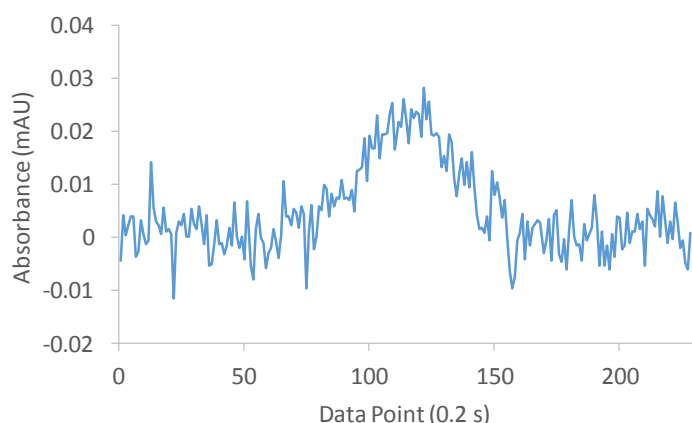


図3 検出限界シグナル(クエン酸, 1.74 mg/L)

シグナル(ピーク)の中心は114データポイント、幅 k は116データポイントである。

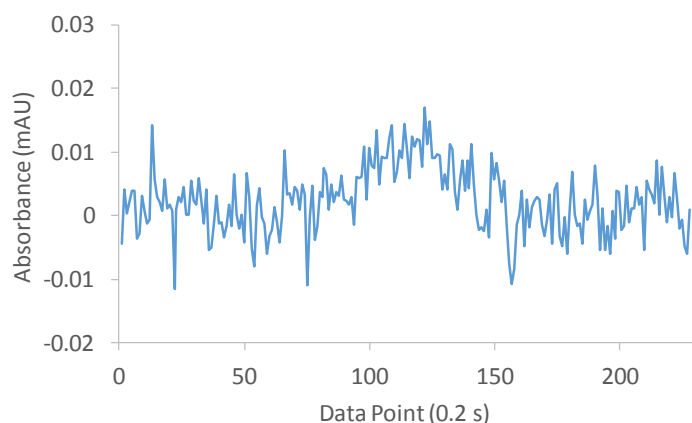


図4 判定限界シグナル(クエン酸, 0.87 mg/L)

DL濃度のクエン酸の測定値は正規分布に従うと仮定して、その平均を y_D 、SDを σ_y としよう。独立変数が y である正規分布の性質として、 $y \geq y_D - 1.65\sigma_y$ である確率は95%である。DLサンプルを測定すると、測定値 y が $y_D - 1.65\sigma_y$ より大きくなる確率は95%であるので、この値を判定限界 $y_C (= y_D - 1.65\sigma_y)$ と設定する(Cはcriticalの頭文字である)。図3の検出限界 y_D のピークに対する判定限界 y_C の平均的

なピークが図 4 である。新しい判定基準を、面積測定値 y が判定限界 y_c より大きければ検出、 y_c より小さければ非検出とする。すると、DL サンプルに対しては、判定の正解（検出）は 95%であり、不正解（非検出）は 5%となる。この不正解は存在の事実を否定するので **false negative** を意味し、第 2 種の過誤 (β) または危険率と呼ばれる。

2.2 検出限界と判定限界の決定

分析物の検出には検出限界 y_D と判定限界 y_c の二つの限界値が必要であり、 $y_c = y_D - 1.65\sigma_y$ という関係があることを 2.1 で説明した。しかし、測定値の SD である σ_y を知り得たととしても、 y_D と y_c を一意に決められるわけではない。ある分析機器の性能を高く見せるために、DL を出来る限り低く抑えたいと目論み、判定限界をブランク測定値、 $y_c = 0$ 、まで下げ、 $0 = y_D - 1.65\sigma_y$ より、最小の DL を $y_D = 1.65\sigma_y$ と設定してみよう。ブランク測定値が正である確率と負である確率が等しいとすれば、ブランクサンプルの測定からは 50%の確率で判定限界 $y_c (=0)$ 以上の測定値が得られ、DL 濃度の分析物が検出されたと誤判定される。この y_c はブランクサンプルの半数から DL サンプルの検出が判定されるというとんでもない基準である。逆に、判定限界 y_c を高く設定すれば、それだけ非検出を主張できる。もっとも、関係式 ($y_c = y_D - 1.65\sigma_y$) に従って、 y_D も高く設定されてしまうので、これでは何のための検出限界か分からない。

判定限界と DL を一意に定める考え方を示そう。まず、直ぐ上で議論したブランクサンプルの測定値のバラツキを考慮する。判定限界 y_c をブランク値まで下げると ($y_c = 0$)、ブランク測定値の 50%が y_c 以上となり、誤判定の確率は 50%となる。そこで、誤判定の確率が 5%となるように、 y_c をブランク値よりも高い値に設定しよう。この判定基準を適用すれば、ブランクサンプルの測定からは 95%の正しい判定（非検出）が得られるはずである。ブランクサンプルを測定の対象にしても、判定の対象はあくまで DL サンプルであることに注意が必要である。5%の誤判定は有もしない DL サンプルの検出 (**false positive**) であり、この誤りは第一種の過誤 (α) または危険率と言われる。

DL はブランク ($= 0$) に近いので、DL サンプルの測定値の SD とブランクサンプルの測定値の SD は等しい ($= \sigma_y$) と見做せる場合が多い (等分散の仮定)。これまでの議論で、判定限界の式が二つえられた。等分散の仮定を採用すれば、 $y_c = 1.65\sigma_y$ と $y_c = y_D - 1.65\sigma_y$ と書ける。これらの式の y_c が等しいとすれば、 $1.65\sigma_y = y_D - 1.65\sigma_y$ より、 $y_D = 3.3\sigma_y$ となる。最後の式は良く知られている DL の式であり、ブランク測定値の SD の 3.3 倍が DL であることを示している。ブランクサンプルの測定における誤判定の確率 (α) と DL サンプルの測定における誤判定の確率 (β) はどちらも 5%と設定している ($\alpha = \beta = 5\%$)。

前項では、平均的には図 3 のように見える筈の DL 濃度の分析物のピークが、ランダムノイズの影響により、図 4 の判定限界シグナルのように小さいピークとして観測されることがあると解釈してきた。つまり、DL サンプルの平均的なピークは $3.3\sigma_y$ の面積をもつが、ノイズが作る谷——その面積は負の値、 $-1.65\sigma_y$ である——の上ですっぽりと乗ってしまうと判定限界のシグナル ($1.65\sigma_y$) に見えると考えるのである。一方、ノイズはランダムであるので、ノイズ自体が図 4 のピーク様のうねりを偶然に作ることもあるだろう。事実、図 2 のクロマトグラムでは、2100 データポイントの辺りで、観測された信号強度はかなり大きく揺らいでいる。これを踏まえて図 4 をじっと見ていると、このうねりは偶然に小さく観測された DL シグナルかもしれないが、ノイズ自体の軌道だとも思えてこないだろうか。このうねりがブランク測定値の一例であるところを確信するためには、ノイズが作る面積 $A(k)$ を実際に観測すればよい。図 2 のクロマトグラム中のノイズが 300 データポイントの領域で作る面積 $A(k)$ のヒストグラムが図 5 である。ギザギザの線が観測された $A(k)$ のヒストグラムであり、滑らかな線がベストフィットの正規

分布である。図 5 の k ($=300$) はクエン酸ピークの幅 k ($=116$) とは異なるが、横軸は $SD=1$ と標準化されているので、横軸が 1.65 である所に、図 4 のうねりである $A(k)$ が存在すると考えることができる。

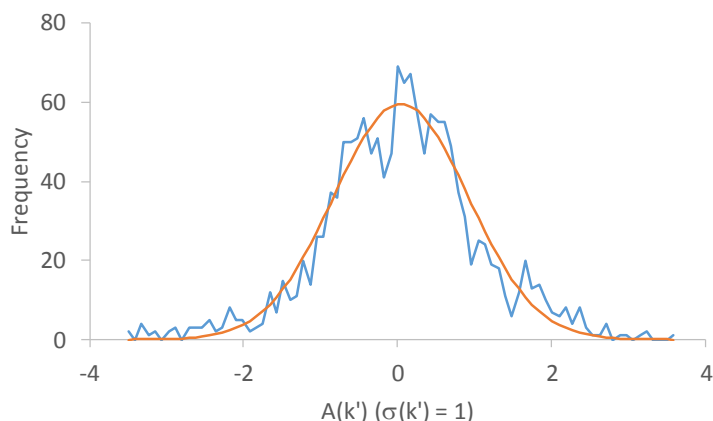


図 5 測定誤差 $A(k)$ のヒストグラム (分布)

X 軸 : $SD=1$ と規格化して表示. $k'=300$. k の代わりに、便宜的に k' を用いている。

2.3 検出の判定

判定限界の役割は二つある。一つは DL 濃度の分析物の存在を確認することであり、他の一つは試料がブランクである可能性を判断することである。図 4 の判定限界シグナルは、検出限界シグナルが偶然に小さく観測されたとも見做せるし、ノイズ自体が大きく揺らいでピーク様の軌道を作ったとも見做せる。これが判定限界の危険率である α と β の意味である。

要約すると、確率 5% の危険率 ($\alpha = \beta = 5\%$) をもって、分析者は次のように言うことができる。

ある濃度未知の検体を測定した場合、

- 測定値が判定限界より小さければ、「DL 濃度のサンプルは検出されなかった」。
- 測定値が判定限界より少し大きければ、「DL 濃度のサンプルは検出された」。

測定結果が DL より小さくても、判定限界より大きければ、DL 濃度の物質の存在を主張するという判断規則は、高い確率 (95%) で DL 濃度の分析物を検出するための方略である。その代償としていくばくかの危険 (5%) が伴う。

判定の対象となる分析物の量はゼロまたは DL である——判定限界は基準であり、検出の対象ではない。しかし、現実には、分析物の濃度は未知である。だからといって、好き勝手な濃度を議論しても意味はない。検出限界の概念は

分析対象物質の量がゼロであるか或いは DL であるかを判定することである。

ゼロと DL 以外の濃度は検出限界の前提でも対象でもない。検出限界よりかなり大きな測定値 y が出現すれば、当然、検出限界濃度の分析物は検出できたと確信できるが、 y に対応する実際の濃度は検出限界の観点ではない。検出限界は判定限界付近の測定値に適用するところに価値がある。

3 参考文献

- [1] 厚生労働省, 第 18 改正日本薬局方: 参考情報, 分析法バリデーション, (2021).
- [2] JIS Z 8402-1 測定方法及び測定結果の精確さ (真度及び精度) —第一部: 一般的な原理及び定義.
- [3] 林 譲, “検出限界の理論と実例”, FUMI 理論研究所 (2019).
<http://www.fumi-theory.com/img/YH-DL2019.pdf>
- [4] 小谷 明, 袴田秀樹, 林 譲, 分析化学, 71, 1-12 (2022).
- [5] 小谷 明, 林 譲, 医薬品/化粧品/食品分野における HPLC・GC 分析テクニック, 技術情報協会, 第 7 章第 1 節 (2020) .
- [6] A. Kotani, S. Tsugu, H. Hakamata, Y. Hayashi, J. Chromatogr. A, 1612, 460644 (2020).
- [7] A. Kotani, H. Hakamata, Y. Hayashi, J. Chromatogr. A, 1621, 461077 (2020).
- [8] A. Kotani, H. Hakamata, Y. Hayashi, J. Pharm. Biomed. Anal., 220, 114165 (2021).
- [9] H. Hasegawa, A. Kotani, H. Hakamata, K. Ichida, Y. Hayashi, J. Chromatogr. A, 1657, 462570, (2021).
- [10] ISO 11843-7 Capability of detection -- Part 7: Methodology based on stochastic properties of instrumental noise
- [11] JIS Z 8462-7 測定方法の検出能力—第 7 部: 分析機器ノイズの確率論的性質に基づく方法
- [12] TOCO19 ユーザーズマニュアル, FUMI 理論研究所 (2020).
<http://www.fumi-theory.com/img/YH-manual7.pdf>