

平成24年度 JLAC技術情報セミナー

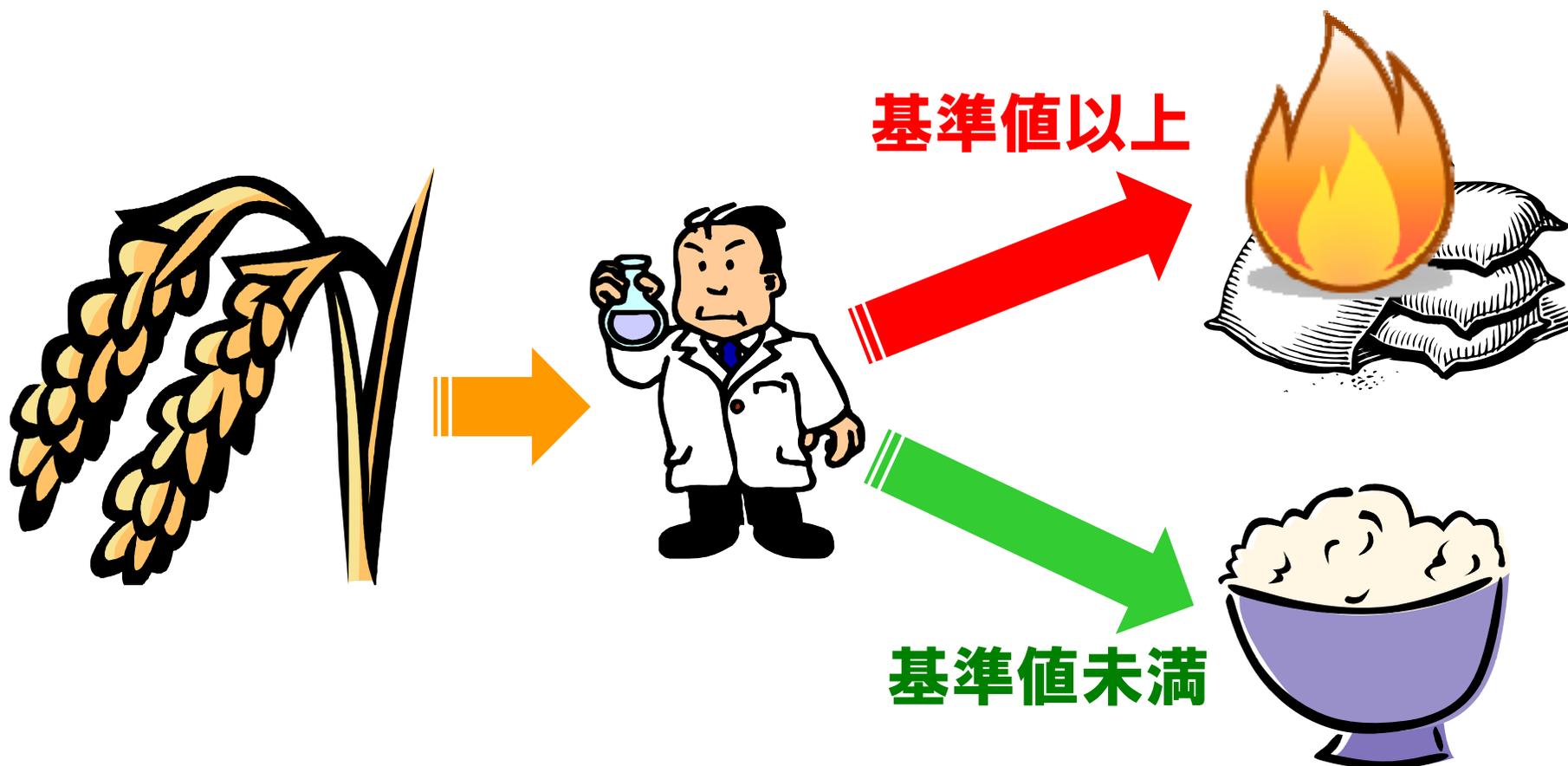
NMIJによる組成標準物質開発と 分析技能向上支援

産業技術総合研究所 計測標準研究部門

稲垣 和三

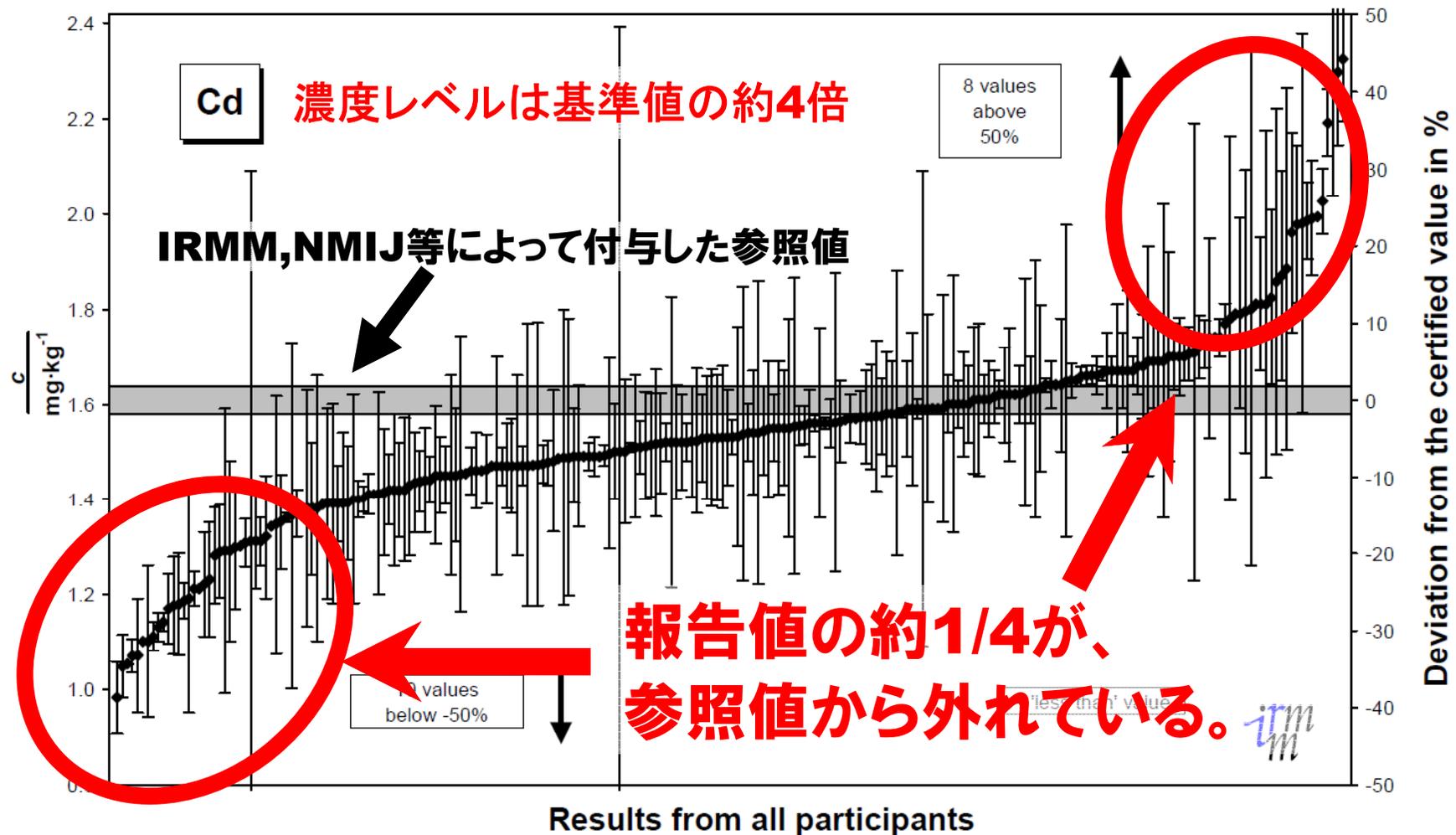
はじめに

食品の安心・安全を確保する上で、
検査等における分析値の信頼性確保が重要。



実際の測定技能レベルは？

精米中カドミウム分析の国際技能試験 (IMEP-19) の結果例

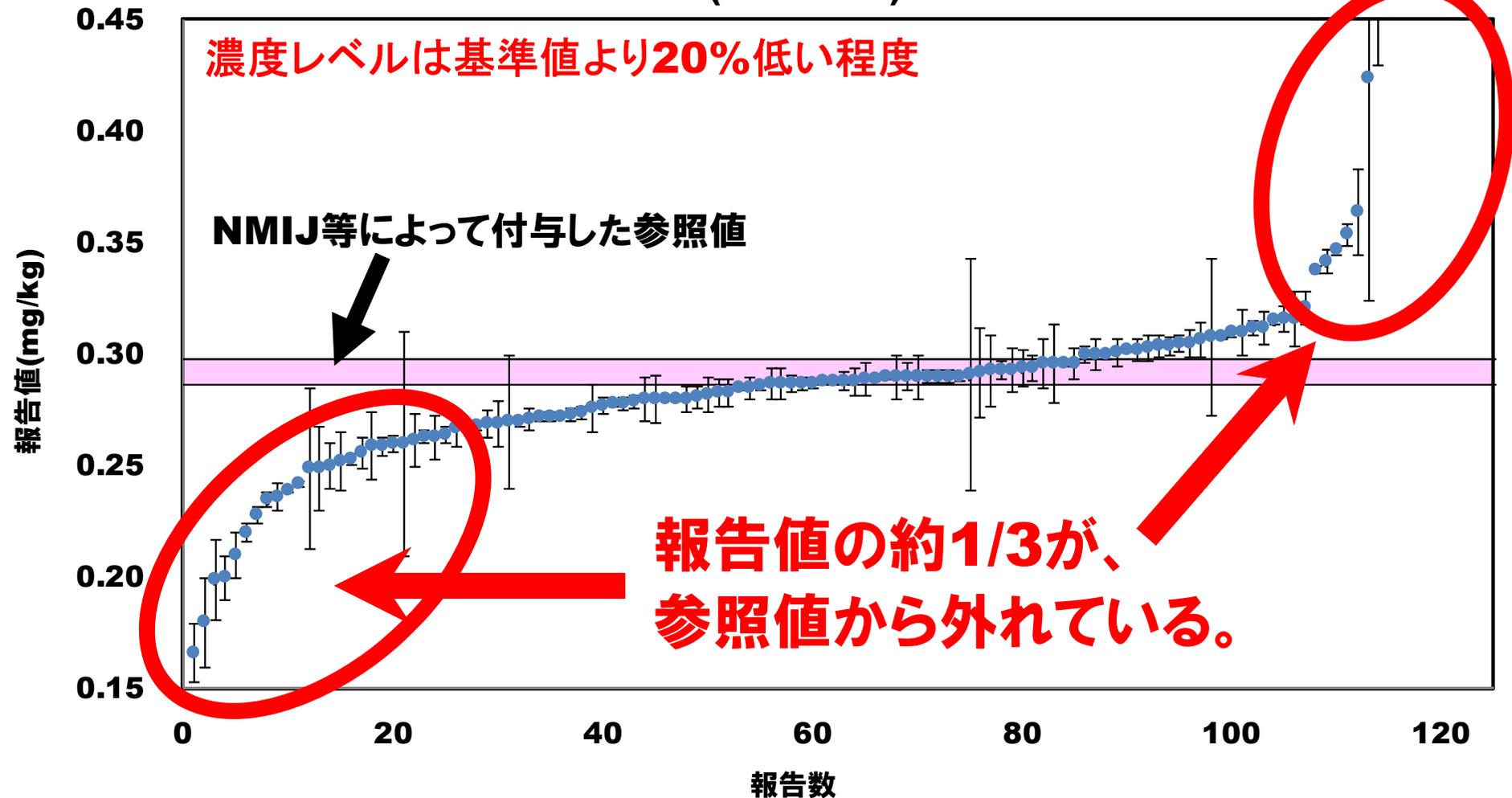


IMEP19報告書(Y.Aregbe et. al., EUR20551EN, 2003)より抜粋

実際の測定技能レベルは？

NMIJ分析技能向上支援プログラム 第4回 玄米中無機元素分析の結果例

Cd (fresh wt.)



信頼性の高い定量値を得るには

- 信頼性の高い分析手法の確立
- 信頼性の高い分析技術の習得
- 分析再現性の確保(技術の維持)

殆どの要素は“分析者”に帰属！

「信頼性が高い」と“他者に認められる”には

- **分析手法の妥当性証明と精度管理**

妥当性評価(Method Validation)

内部精度管理 (Internal Quality Control)

外部精度管理 (External Quality Assessment)

- **国際的な枠組みの中での試験所認定**

ISO/IEC 17025 (JIS Q17025)

校正機関及び試験所の能力に関する一般的要求事項

NMIJ 環境標準研究室：3つの供給

環境・食品検査分析の信頼性確保を支援するために

- 認証標準物質の開発と供給

分析法の妥当性確認、内部精度管理に利用できる組成標準物質を開発供給。

- 技能向上支援プログラム

分析現場で難しくなっている技能教育を、技能試験(外部精度管理)・講習会を通じてサポート。

- 分析機器及び技術

簡便で頑健な分析機器・技術を開発供給。

食品分析用認証標準物質の開発と供給

国際的な通用する品質システムのもとで、
分析法の**妥当性確認**、**内部精度管理**に利用できる
組成標準物質を開発供給。

組成標準物質：白米粉末を例に



- 一般流通米より調製。
- 検査分析試料と同形態。
- 均質試料。
- カドミウム濃度を認証。
- **CODEX**基準に対応。

標準物質を用いた分析操作の妥当性確認

- 標準物質を実試料と一緒に分析。
- 定量分析値と認証値を比較。

一致

分析操作全般が妥当

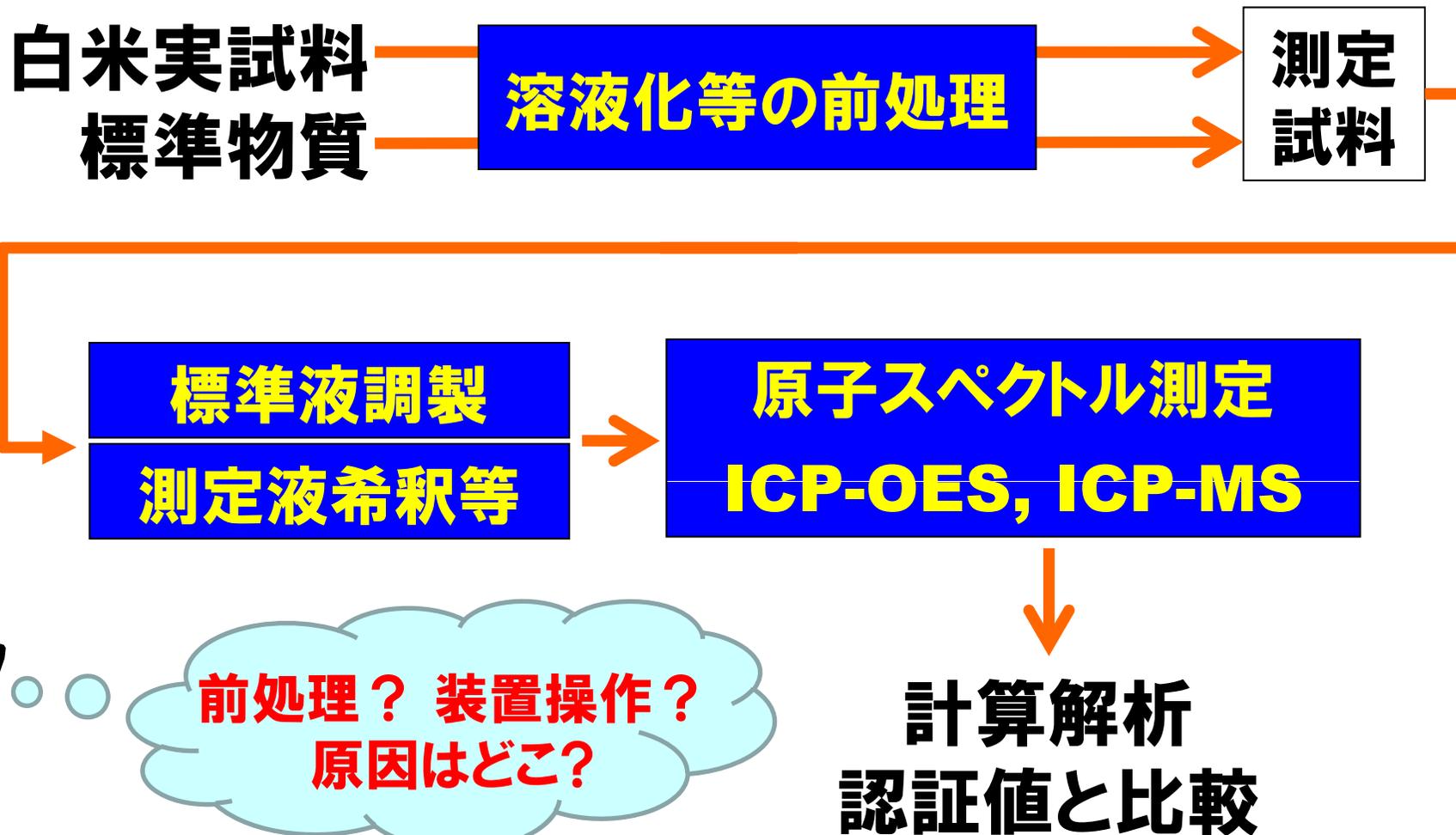
不一致

分析手法の再検討

前処理？ 装置操作？
原因はどこ？



カドミウム分析用白米粉末標準物質の利用例



前処理? 装置操作?
原因はどこ?

NMIJ 組成標準物質の特徴

国際的に通用する品質システムのもとで、
信頼性の高い分析技術により特性値を値付けし、
国際的な枠組みに適合した組成標準物質。



NMIJ 組成標準物質の開発ポリシー

1. 高度な分析技術による信頼性の高い値付け
2. 国際相互承認の枠組みに適合した標準物質開発

NMIJにおける標準物質開発ポリシー

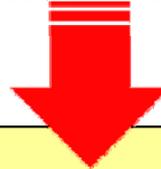
1. 高度な分析技術による信頼性の高い値付け

- 一次標準分析法 (IDMS) を中心に、十分に妥当性確認した複数の分析方法による値付け分析。
- 国際比較試験による分析能力証明。
- GUM*に準拠した不確かさ評価

*GUM: the guide to uncertainty measurement

NMIJ標準物質：値付けのための分析

1. 精確さを確認した一次標準測定法(原理的に最高の質を有する方法)及び他方法の組合わせ。
2. 精確さを確認した分析方法**3**つ以上の組合わせ。
3. 妥当性を確認した複数の前処理方法の組み合わせ。

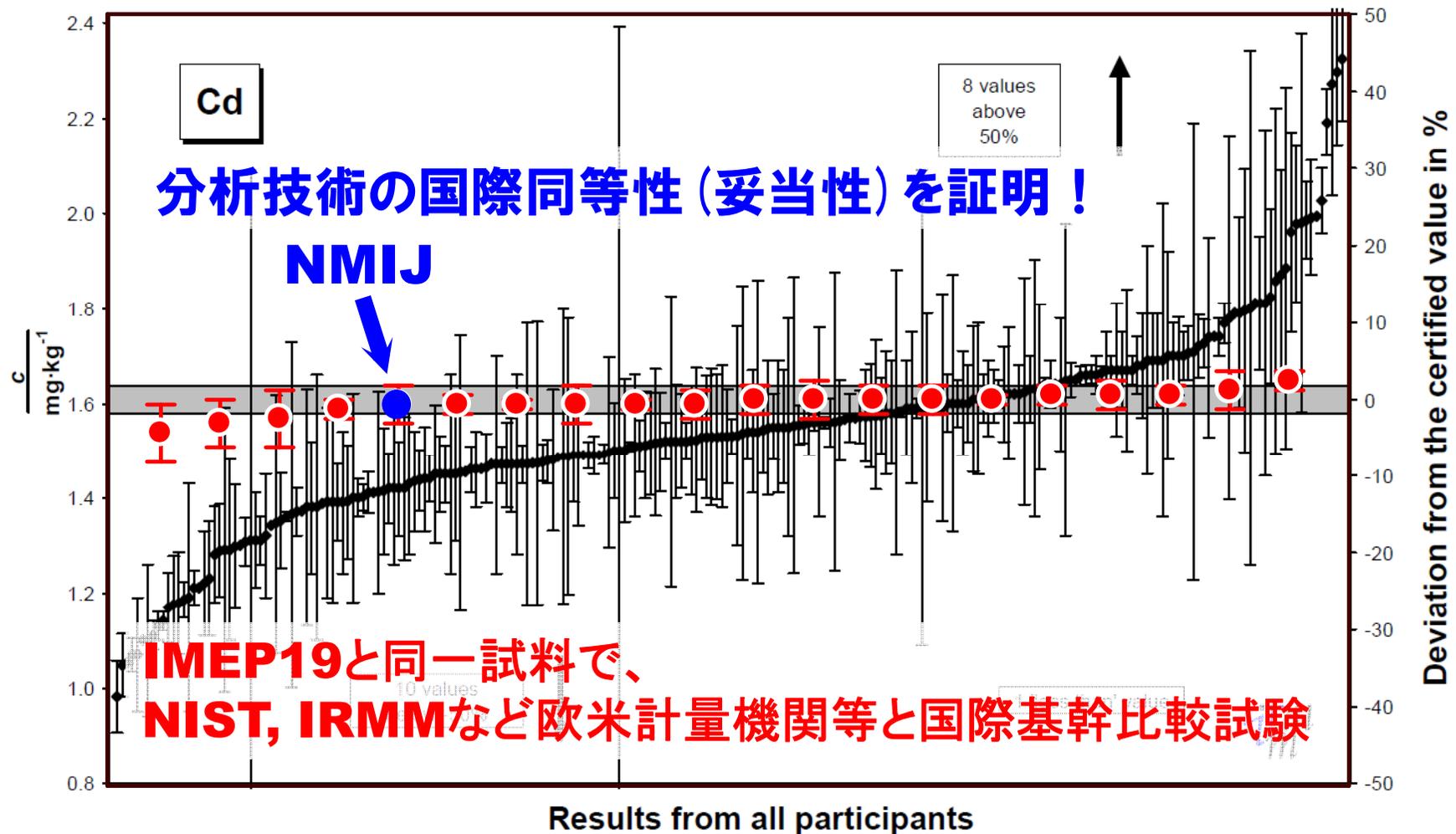


試料前処理及び測定法の組合わせ例(白米CRMの場合)

- ・マイクロ波酸分解($\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2\text{-HF}$) + **ID-ICPMS**
- ・マイクロ波酸分解($\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2\text{-HF}$) + **ID**以外
- ・マイクロ波酸分解($\text{HNO}_3\text{-HClO}_4\text{-HF}$) + **ID**以外
- ・乾式灰化 + **ID-ICPMS**

国際基幹比較による分析能力証明 例

米中Cd分析の国際基幹比較(CCQM-K24)



複数分析方法による値付け結果例

白米粉末CRMのCd濃度の値付け分析結果

	7501-a	7502-a
ICPMS	0.0517 ± 0.0018	0.546 ± 0.006
GFAAS	0.0524 ± 0.0016	0.545 ± 0.014
ID-ICPMS	0.0516 ± 0.0020	0.551 ± 0.010
灰化/ID-ICPMS	0.0514 ± 0.0011	0.552 ± 0.010
特性値	0.0517 mg/kg	0.548 mg/kg

平均値 ± 標準不確かさ、単位: mg/kg

特性値の算出

各分析法による定量結果を不確かさの逆数で重み付けして算出。

国際的な枠組みに適合した標準物質開発

- **ISO Guide34** (標準物質生産者に関する一般的要求事項) に基づく品質システムで生産管理。
- **ISO Guide35** (標準物質の認証 一般的及び統計学的原則) に基づく値付け。
- 国際相互承認された生産技術及び品質管理。
← 外国計量標準研による技術審査。

特性値の「不確かさ」評価(ISO Guide35準拠)

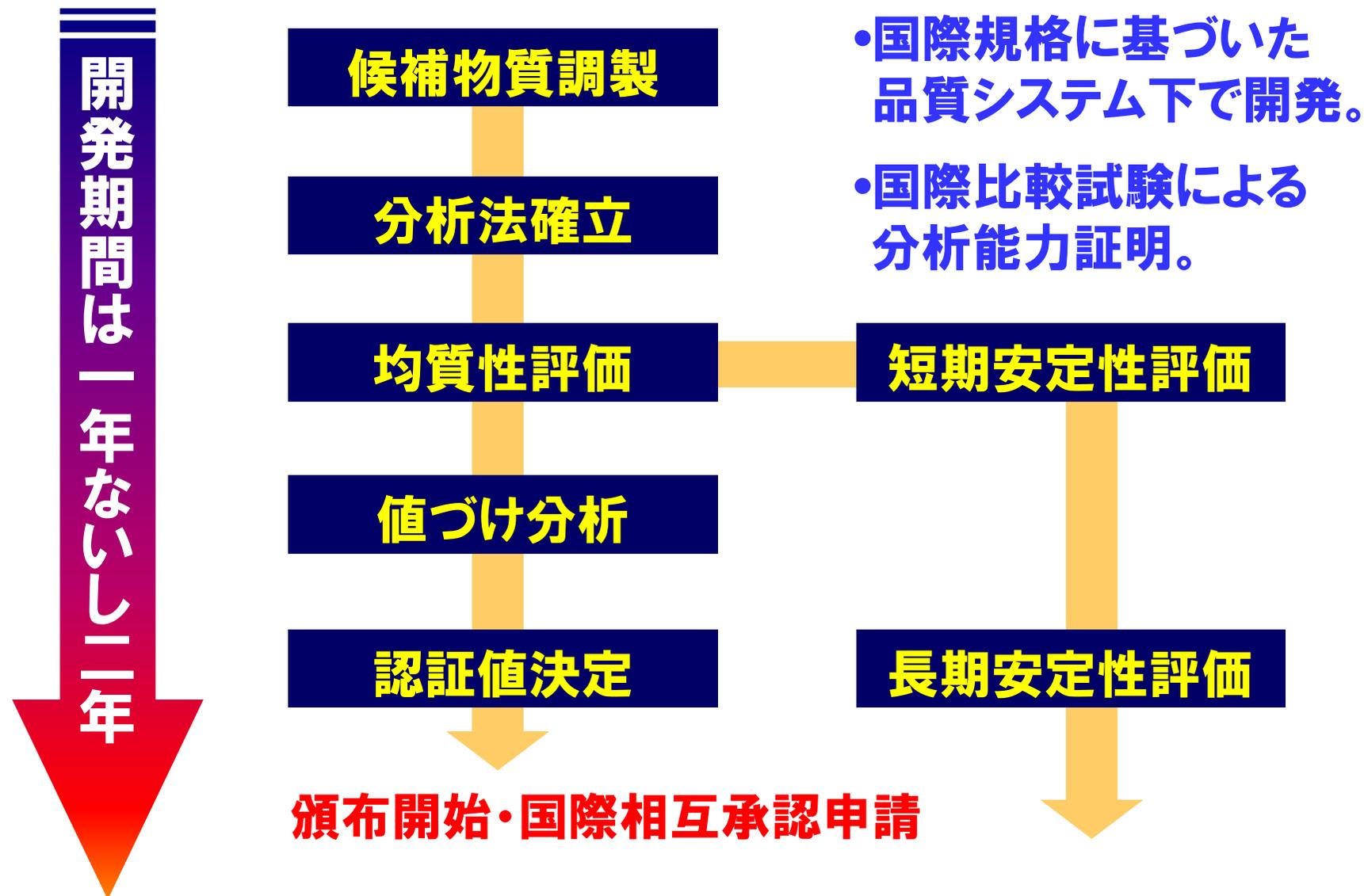
特性値に影響する不確かさを可能な限り評価。
それらを合成して拡張不確かさを付与。

評価項目例

- ・分析の不確かさ(試料前処理含)
- ・均質性の不確かさ
- ・安定性の不確かさ
- ・分析方法間差、など

(JIS Q 0035: 2008, ISO Guide 35: 2006 3rd ed.)

組成標準物質開発の流れ



値付け能力の国際相互承認登録 例(白米標準物質)

Amount of substance, Food, Japan, NMIJ (National Metrology Institute of Japan)

Note: In the case where an uncertainty range is given, the expanded uncertainty range is expressed as the uncertainty of the smallest value of the quantity to the uncertainty of the largest value of the quantity.



The expanded uncertainties correspond to $k = 2$ (level of confidence 95%)

NMI Service Identifier	Measurement Service Sub-Category	Matrix	Measurand		Dissemination Range of Measurement Capability			Range of Expanded Uncertainties as Disseminated			Range of Certified Values in Reference Materials			Range of Expanded Uncertainties for Certified Value			Mechanism(s)	Date of Approval		
			Analyte or Component	Quantity	From	To	Unit	From	To	Unit	From	To	Unit	From	To	Unit			Is the expanded uncertainty a relative one?	
11-1	Contaminants	fish oil	p,p'-DDE	Mass fraction	1.5	6.0	mg/kg	2	3	%	Yes									
11-7-01	Contaminants	rice	Cd	Mass fraction	0.005	5	mg/kg	7	2.5	%	Yes							Calibration service	Approved on 07 November 2006	
11-08-01	Contaminants	fish tissue	arsenic	Mass fraction	1	100	mg/kg	10	2	%	Yes	36.7	36.7	mg/kg	1.8	1.8	mg/kg	No	NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008
11-08-02	Contaminants	fish tissue	arsenobetaine as arsenic	Mass fraction	1	100	mg/kg	10	2	%	Yes	33.1	33.1	mg/kg	1.5	1.5	mg/kg	No	NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008
11-08-03	Contaminants	fish tissue																NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008	
11-08-04	Contaminants	fish tissue																NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008	
11-08-05	Contaminants	fish tissue																NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008	
11-08-06	Contaminants	fish tissue	iron	Mass fraction	1	100	mg/kg	10	3	%	Yes	11.2	11.2	mg/kg	0.9	0.9	mg/kg	No	NMIJ CRM 7402-a	Approved on 15 December 2008

校正能力範囲

認証値範囲

登録物質

認証値範囲及び登録物質を登録済

物質範囲は穀類全般

<http://kcdb.bipm.org/>

組成標準物質例 NMIJ CRM7501-a & 7502-a 白米粉末



単位: mg/kg

元素	7501-a	7502-a
	認証値 ± U (k = 2)	認証値 ± U (k = 2)
Na	5.3 ± 0.8	5.8 ± 0.8
K	1190 ± 40	1430 ± 50
Mg	451 ± 16	560 ± 21
Ca	61 ± 3	60 ± 3
P	1500 ± 60	1800 ± 90
Mn	6.75 ± 0.26	11.2 ± 0.4
Fe	4.04 ± 0.24	4.48 ± 0.20
Cu	2.49 ± 0.09	3.02 ± 0.11
Zn	20.1 ± 0.7	26.0 ± 0.9
Cd	0.0517 ± 0.0024	0.548 ± 0.020
Mo	0.558 ± 0.022	0.79 ± 0.03
Cr		0.075 ± 0.013
Ni		0.390 ± 0.022
Rb		1.77 ± 0.07
Sr		0.068 ± 0.003
As		0.109 ± 0.005
Ba		0.137 ± 0.005
Pb		0.0043 ± 0.0006

認証項目数

7501-a: 11元素

7502-a: 18元素

NMIJが供給している食品分析関連標準物質

- ・サメ肝油 (塩素系農薬)
- ・タラ魚肉粉末 (微量元素他)
- ・メカジキ魚肉粉末 (メチル水銀他)
- ・スズキ魚肉粉末 (PCB, 塩素系農薬)
- ・ヒジキ粉末 (微量元素, ひ素化合物)
- ・白米粉末 (微量元素)
- ・白米粉末 (ひ素化学形別)
- ・玄米粉末 (残留農薬)
- ・ネギ粉末(残留農薬)
- ・キャベツ粉末(残留農薬)
- ・リンゴ粉末(残留農薬)
- ・大豆粉末(微量元素)
- ・ミルク粉末(微量元素)
- ・玄米粉末(カドミウム他)
- ・玄米粉末(放射性セシウム)

詳細情報: <http://www.nmij.jp/service/C/crm/>

分析技能向上支援プログラムの供給

技能試験(外部精度管理)と技能講習会の一体型プログラム
客観的な分析技能の把握により、
検査分析等の技術的な問題の解決をサポート

①外部精度管理として機能

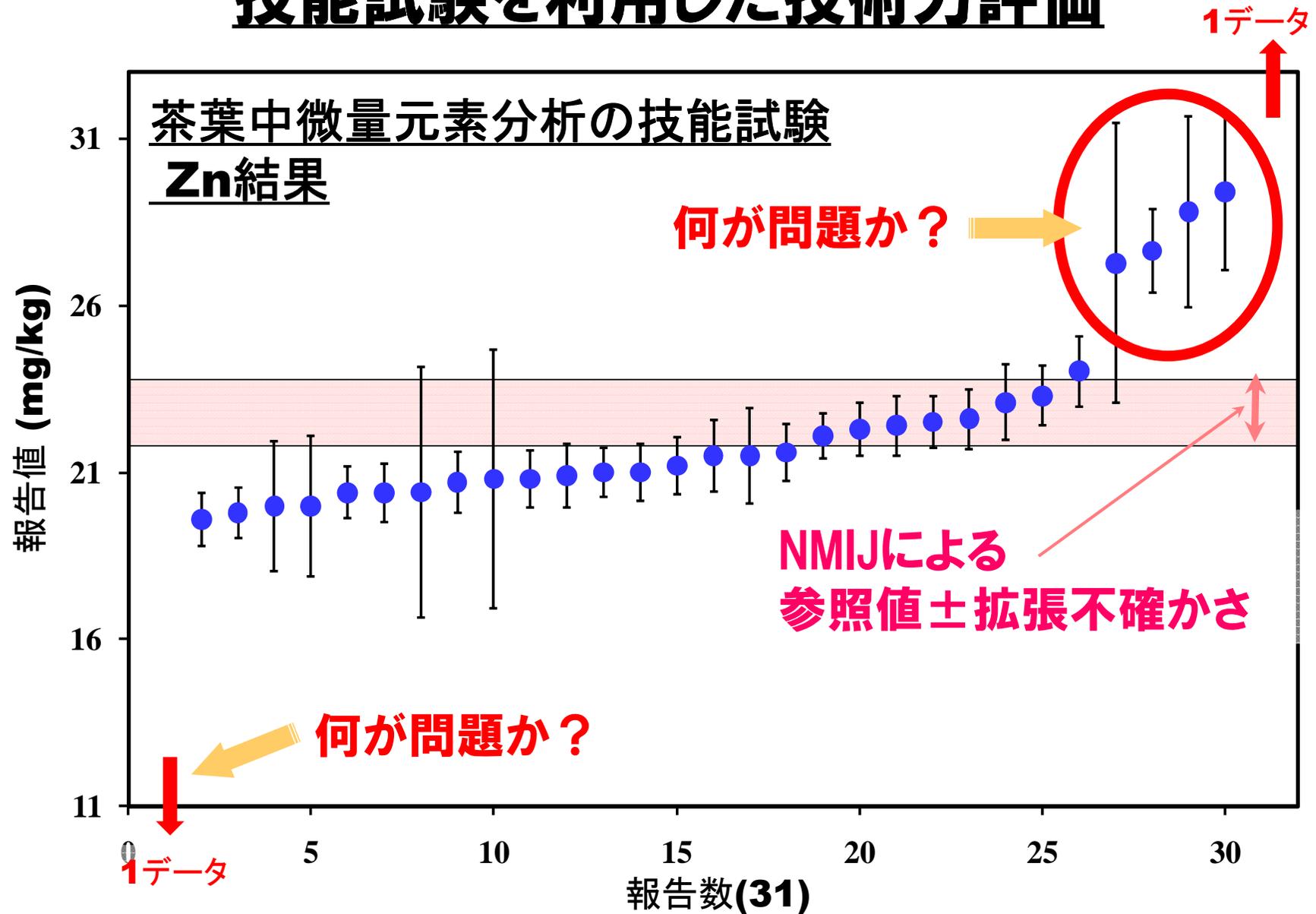
②スキルアップ、技術改善のサポートが主目的

分析技能向上支援プログラムの特徴

技能試験と技能講習の一体型パッケージプログラム

- **CRM認証と同様の手法で参照値を付与**
参加者数や、技能の偏りによらない評価が可能。
- **操作全般に関する詳細な報告とその解析**
分析操作状況を可能な限り把握することで問題点を抽出。
- **解析結果に基づく講習会を実施**
分析操作に関する諸問題及びその解決策を講義。

技能試験を利用した技術力評価



これまでの分析技能向上支援プログラム

第1回：茶葉中無機元素分析

第2回：河川水中無機元素分析

第3回：鉛フリーはんだ分析

第4回：玄米中無機元素分析

第5回：玄米中無機元素分析（実施中）

第4,5回は(独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所との共同開催

その他：大豆中農薬分析（実施中）

技能試験の解析評価に関して

技能試験の評価結果は、あくまで**“その試験のみ”**の結果。
参加者の実力が判断されるわけではない。

重要なことは、
“問題点を把握”し、**“継続的に改善”**すること

ISO 13528 の4.1.1

**優秀なスタッフがあり、運営が良好である試験所においても、
異常な結果が発生することがある**

...(中略)...ここに規定する基準(ここでは、 z スコア、 E_n 数のこと)を用いて、検討対象の測定方法を実施するのに不適合であるとして、試験所を不良としてはならない。技能試験を試験所判定に使用する場合は、その目的に合った適切な基準を設定しなければならない。

分析技能向上支援プログラムの運営

ISO/IEC 17043:2010 (JIS Q17043:2011)

「適合性評価－技能試験の一般要求事項」

に基づく運営* (産総研 国際標準推進部が認定取得予定)

報告値の解析評価

①IUPAC/ISO/AOAC International

技能試験に関するハーモナイズドプロトコル

(*Pure Appl. Chem.*, 78(1), 145-196 (2006))

②ISO/IEC 17043に従って実施

技能向上支援プログラム概要 例（玄米中無機元素）

試料：玄米粉末 **20 g**

分析対象：**Mn, Fe, Cu, Zn, As, Cd** (選択は任意)

測定方法：任意に選択

実施期間：**2011年9月12日** 試料送付

2011年11月18日 結果報告締切

参加申込数：**138人** (5名辞退)

結果報告数：**133 件**

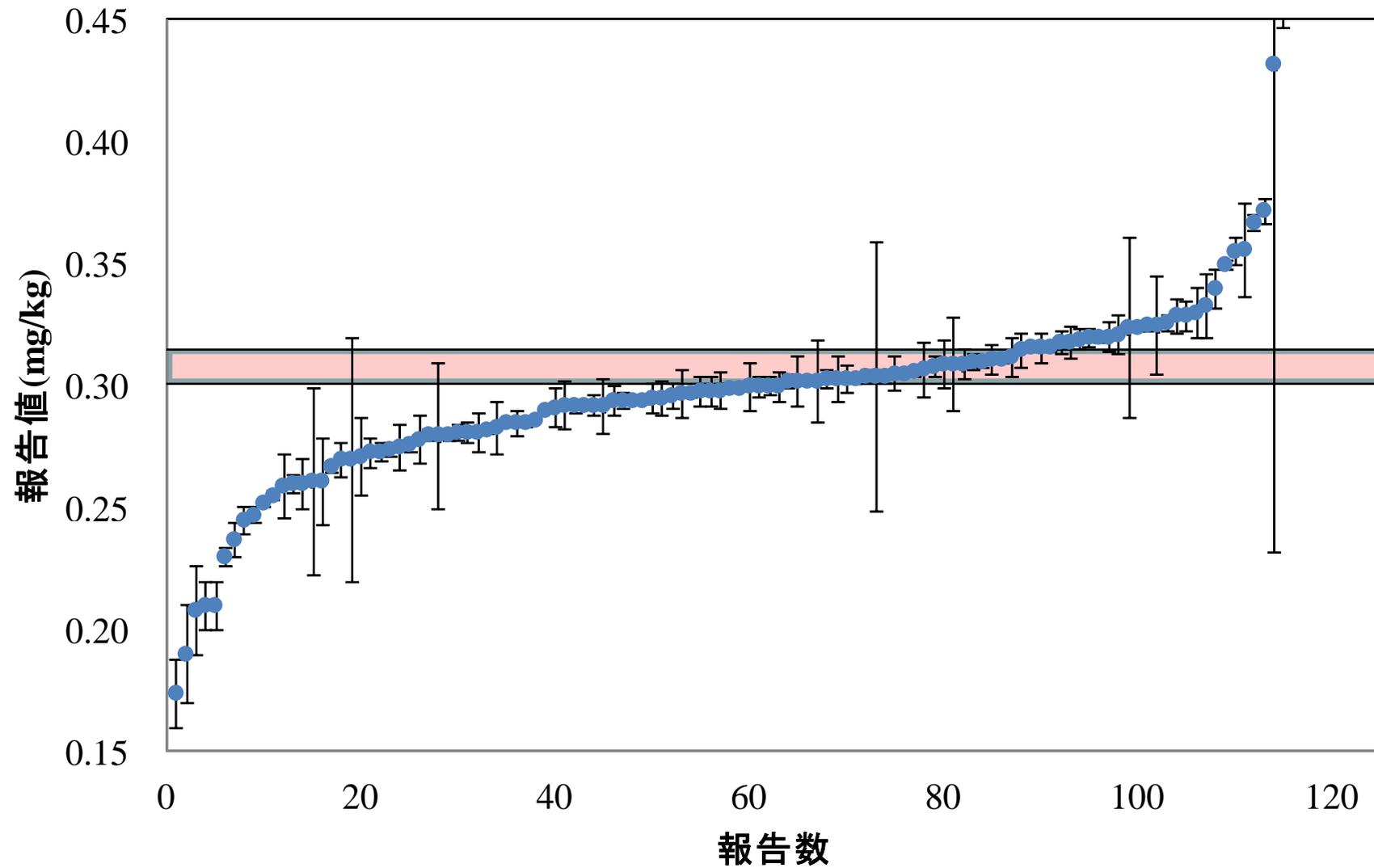
元素ごとの結果報告数(分析方法別)

項目	全報告数	FAAS	GFAAS	ICP-OES	ICP-MS	XRF	その他
Mn.dw	77	11		35	29	2	
Fe.dw	73	11		33	27	2	
Cu.dw	79	12		33	32	2	
Zn.dw	78	12	1	33	30	2	
As.dw	58	6		11	32		9 ^{*1}
Cd.dw	121	29	14	32	42	2	2 ^{*2}

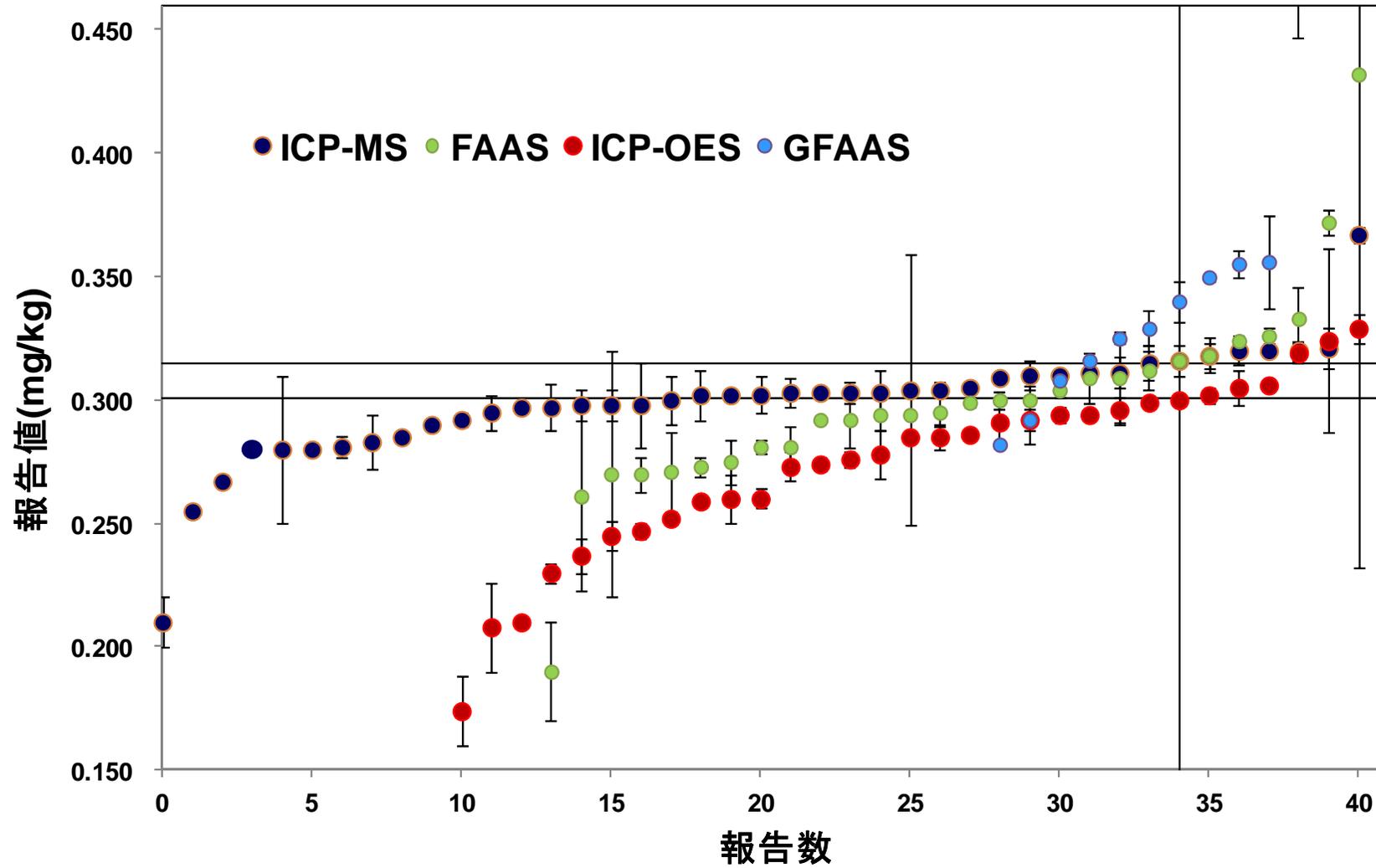
*1 HG-AAS

*2 IC, voltammetry

報告値分布例(Cd dw.)



報告値分布例(分析法別、Cd dw.)



報告値の解析評価

Zスコア評価

報告値の分布における“**相対的な位置**”を知ることができる

← 報告値の分布に大きく依存する評価

E_n 評価

参照値*²との比較により、分析値の偏り等、

“**評価できていない不確かさの程度**”を知ることができる

← 報告値の分布に依存しない評価

*² CRM認証値もしくはそれと同等の質を有する値
エキスパートラボの報告値から算出される場合もある

報告値の解析評価

Z-スコア評価

IUPAC/ISO/AOACハーモナイズドプロトコル推奨に従い算出。

- ①全報告値の中央値の**50%~150%**の範囲外にある値を除外
- ②Huberの**H15**法を用いてロバスト平均値(x_{rob})を算出
- ③評価のための標準偏差(σ_p)は**Horwits**式より算出

$$S_z = \frac{x - x_{rob}}{\sigma_p}$$

$|z| \leq 2$ のとき測定値は受け入れ可能

$2 < |z| < 3$ のとき測定値は疑わしい

$|z| \geq 3$ のとき測定値は検討が必要

S_z : z スコア, x : 報告値

報告値の解析評価

E_n 評価

ISO/IEC17043に従い算出。

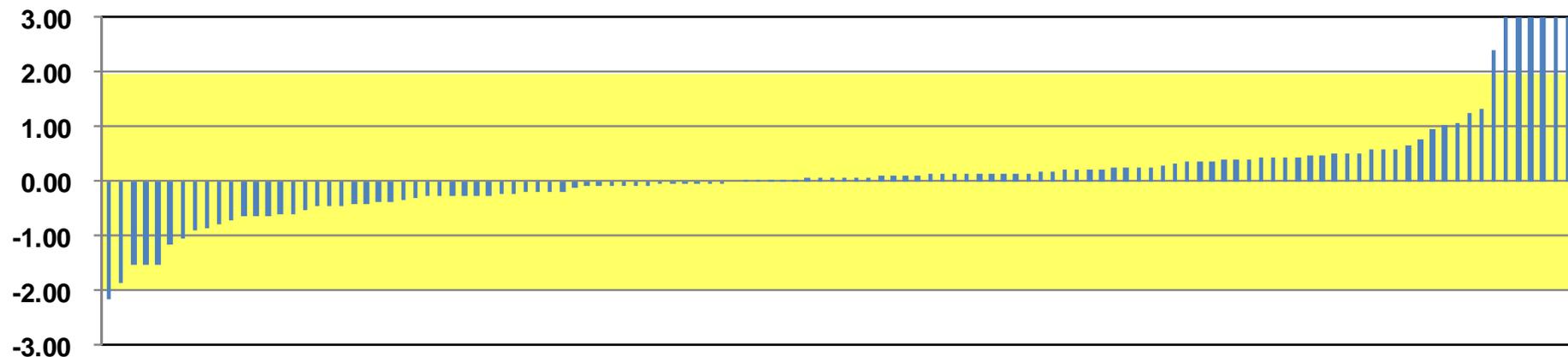
- ① **NMIJ**による参照値(x_a)付与 (認証値付与と同様のプロセス)
- ② 参照値の拡張不確かさ(U_a : 包含係数 $k=2$) は、均質性起因の不確かさを含む
- ③ 各報告値(x)の標準偏差を 報告値の標準不確かさ(u)かきの推定値とし、包含係数 $k=2$ を乗じて拡張不確かさ(U)とした

$$E_n = \frac{(x - x_a)}{\sqrt{U^2 + U_a^2}}$$

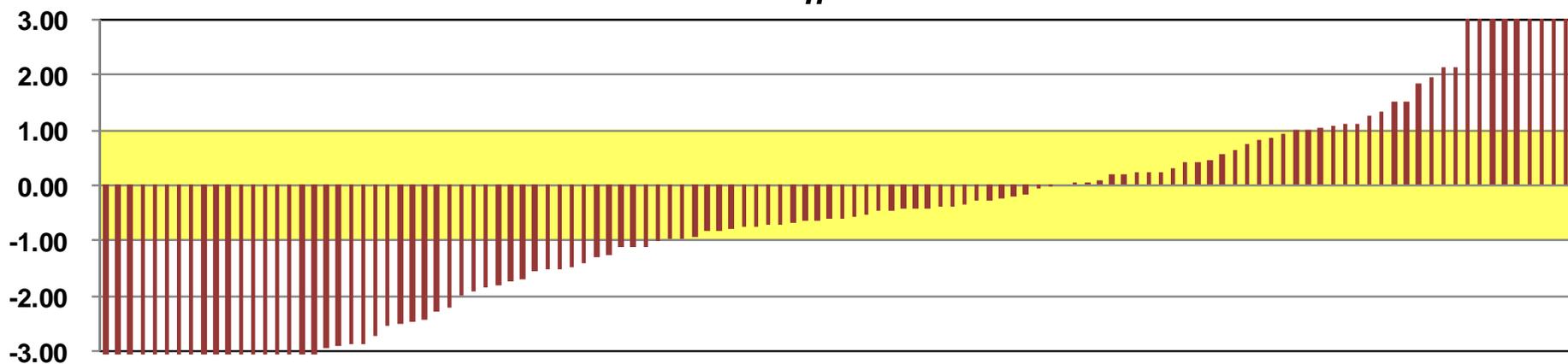
$|E_n| \leq 1$ のとき測定値は満足
 $|E_n| > 1$ のとき測定値は不満足

解析評価例(Cd dw.)

zスコア



E_n



解析評価まとめ

項目	全データ数	$ z \leq 2$ 参加者数	$ z \leq 2$ 割合(%)	$ E_n \leq 1$ 参加者数	$ E_n \leq 1$ 割合(%)
Mn.dw	77	72	94%	30	39%
Fe.dw	74	65	88%	40	54%
Cu.dw	78	74	95%	39	50%
Zn.dw	78	72	92%	38	49%
As.dw	58	53	91%	32	55%
Cd.dw	121	113	93%	52	43%

まとめにかえて

環境・食品検査分析の信頼性確保を支援するために

- **認証標準物質の開発と供給**

分析法の妥当性確認、内部精度管理に利用できる組成標準物質を開発供給。

- **技能向上支援プログラム**

分析現場で難しくなっている技能教育を、技能試験(外部精度管理)・講習会を通じてサポート。

- **分析機器及び技術**

簡便で頑健な分析機器・技術を開発供給。

補足資料

標準物質開発に関わる国際規格等

品質システム関連

ISO Guide 34:2000 (JIS Q0034:2001)

標準物質生産者に関する一般的要求事項

ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q17025:2005)

校正機関及び試験所の能力に関する一般的要求事項

値付け関連

ISO Guide 35:2006 (JIS Q0035:2008)

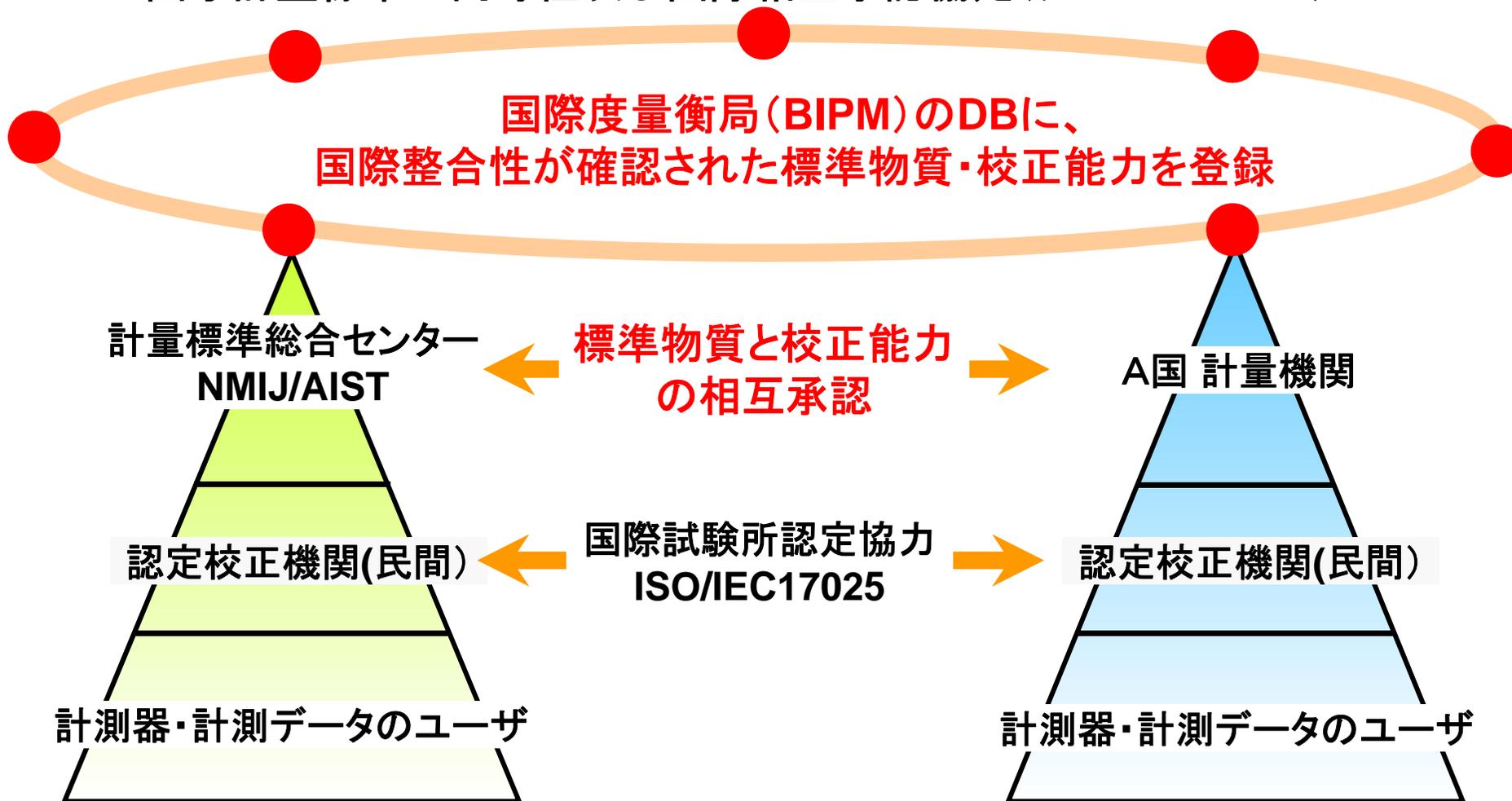
標準物質の認証 一般的及び統計学的原則

ISO/IEC98

測定の不確かさの表現の指針(GUM)

国際相互承認の枠組み

国家計量標準の同等性及び国際相互承認協定(グローバルMRA)



他国の校正・試験データを自国でも受け入れる「ワンストップテストイング」

標準物質の定義

標準物質 (RM: Reference Material)

“一つ以上の指定された特性について、十分均質かつ安定であり、測定プロセスでの使用目的に適するように作成された物質”

認証標準物質 (CRM: Certified Reference Material)

“一つ以上の指定された特性について、計量学的に妥当な手順によって値つけされ、指定された特性の値およびその不確かさ、並びに計量学的トレーサビリティを記述した認証書がついている標準物質”

(JIS Q 0035: 2008, ISO Guide 35: 2006 3rd ed.)

一次標準測定法とは

原理的に

「最高の質を有し、その操作が完全に記述され、理解され、かつ不確かさがSI単位を用いて完全に記述される方法」

国際度量衡委員会/物質質量諮問委員会(CIPM/CCQM)における合意

- ・重量分析
- ・クーロメトリー
- ・滴定
- ・同位体希釈質量分析法(IDMS法)
- ・凝固点降下法

認証値の不確かさ、測定値の不確かさ

認証値の不確かさ

ある量の認証値に付けられた推定値で、記述された信頼水準で「**真の値**」が**確実にその中にある**と言える**値の範囲**を指したものの。

(JIS Q 0030:1997)

測定値の不確かさ

測定の結果に付随した、合理的に測定量に結び付けられ得る値のばらつきを特徴図づけるパラメーター。

(JIS Z8103: 2000)

標準物質を使ってどう評価する？

$$\Delta m = |C_m - C_{CRM}|$$

Δm : 認証値と定量値の絶対差、
 C_{CRM} : 認証値、 C_m : 定量値

$$U_{\Delta} = \sqrt{U_{CRM}^2 + U_m^2}$$

U_{Δ} : 定量値と認証値の合成不確かさ、
 U_{CRM} : 認証値の不確かさ、
 U_m : 定量値の不確かさ

$\Delta m \leq 2 \times U_{\Delta}$: 定量値と認証値に有意差なし(方法が妥当)

$\Delta m > 2 \times U_{\Delta}$: 同 有意差あり(方法に問題あり)

*** 2倍するのは、95 %信頼区間にするため。**

分析法の妥当性評価とは

意図する特定の用途に対して、
個々の要求事項が満たされていることを調査に
よって確認し、**客観的な証拠**を用意すること。

意図する特定の用途

← 自分で決めるところ。

検出限界、再現性などはどこまで必要？

例えば、**1 ppb**の検出限界が必要なところに
1 pptの検出限界要求は不要。

要求レベルに対して妥当であればよい。

求められている分析の質は？

- **コンプライアンス：規制値と分析値の比較**
 - ← 比較できる精確さ(精度＋精確さ)が必要。
- **サーベイランス：分析対象を有意に含む/含まないの区別**
 - ← 高い精確さは不要。区別できるかどうか。
- **モニタリング：分析値に有意な差があるかどうかの区別**
 - ← 区別できる精度が必要。一定偏りは問題なし。

妥当性評価のガイドライン

- **Eurachem Guide: “The Fitness for Purpose of Analytical Methods” (1998).**
- **Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure Appl. Chem.*, 67, 331-343 (1995).**
- **ICH Q2A guideline: Validation of Analytical Procedures: Methodology: Text and Methodology (1995).**
- **ICH Q2B guideline: Validation of Analytical Procedures: Methodology: Text and Methodology (1997).**
- **Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis, *Pure Appl. Chem.*, 78, 145-196 (2006).**

内部精度管理

試験所内で行う精度管理。日常的な分析過程に一定の割合で同一試料ないし添加試料を挿入し、得られた測定結果をもとに、**許容される範囲にあるか否かをモニタリングすること。**

管理図*等を用いて管理する場合あり。

* JIS Z 9020「管理図一般指針」

* JIS Z 9021「シューハート管理図」

- ・標準物質の分析試験
- ・添加回収試験
- ・繰り返し測定試験（二重測定など）

一定分析回数（期間）ごとに行う上記試験結果を基に、精度（真度＋精度）を管理する。

外部精度管理

第三者によって用意された同一試料を、複数の試験所で分析し、その分析値を比較評価すること。
試験所間比較、技能試験 (**Proficiency Testing**)
がそれに該当する。

技能試験における評価手法

- **Z**スコア：参加者結果の平均値もしくは中央値からの差による評価。
- **E_n**数：特定機関により値付された参照値からの差による評価。

国際的な枠組みの中での試験所認定

ISO/IEC 17025 (JIS Q17025)

校正機関及び試験所の能力に関する一般的要求事項

序文

試験所がマネジメントシステムを運営し、技術的に適格であり、かつ、技術的に妥当な結果を出す能力があることを実証しようと望む場合、それらの試験所が満たさなければならないすべての要求事項。

ISO/IEC 17025の技術的要求事項

- **要員(5.2)**
- **施設及び環境条件(5.3)**
- **試験の方法及び方法の妥当性確認(5.4)**
- **設備(5.5)**
- **測定トレーサビリティ(5.6)**
- **サンプリング(5.7)**
- **試験品目の取り扱い(5.8)**