

分析バリデーション 評価項目例

項目	実施方法	評価方法	評価水準
直進性	最小二乗法 横軸: 含量5点 縦軸: ピーク面積比	相関係数	0.99以上
		検量線の式 y切片の絶対値	100%溶液のレスポンス値の4%以下
真度	添加回収実験 3濃度 3回繰返し	個々の回収率	97~103%
		真度の信頼区間	0が真度の信頼区間に含まれる
併行精度	3濃度3回繰返し	相対標準偏差	2.0%以下
	1濃度2回繰返し6日間	相対標準偏差	2.0%以下
室内再現性	1濃度2回繰返し6日間 [変動要因] 試験日(6日) 試験者(2名) 試験装置(2装置) 試薬(2ロット)	相対標準偏差 一元配置分散分析	2.0%以下
特異性	検体A: 水 検体B: 水+内標準物質 検体C: プラセボ 検体D: 当該物質 検体E: 100%濃度液+内標準物質 1回	クロマトグラムの比較	分析対象物(当該物質)を確認でき、妨害ピークと重ならない
システム適合性 性能	1濃度(100%)	分離度	2.0以上
再現性	6回繰返し	相対標準偏差	1.0%以下
範囲	直線性、真度及び精度の 試験結果より評価する	直線性: 相関係数	80~120%の範囲内で評価水準適合 r=0.99以上
		真度 : 回収率	97~103%
		併行精度: 相対標準偏差	2.0%以下
変更前後の 試験法の比較	製品3ロット 3回繰返し	二元配置分散分析による 有意差検定	有意水準(0.05)
	変動要因 ロット	ロット間の分散比FA	FA=3.89以下
	試験方法	試験間の分散比FB	FB=4.75以下

項目	実施方法	評価方法	評価水準
併行精度	3濃度3回繰返し 1濃度2回繰返し6日間	相対標準偏差 相対標準偏差	2.0%以下 2.0%以下
室内再現精度	1濃度2回繰返し6日間 [変動要因] 試験日(6日) 試験者(2名) 試験装置(2装置) 試薬(2ロット)	相対標準偏差 一元配置分散分析	2.0%以下

$$\text{併行精度} = \sqrt{V_e} = \sigma_e$$

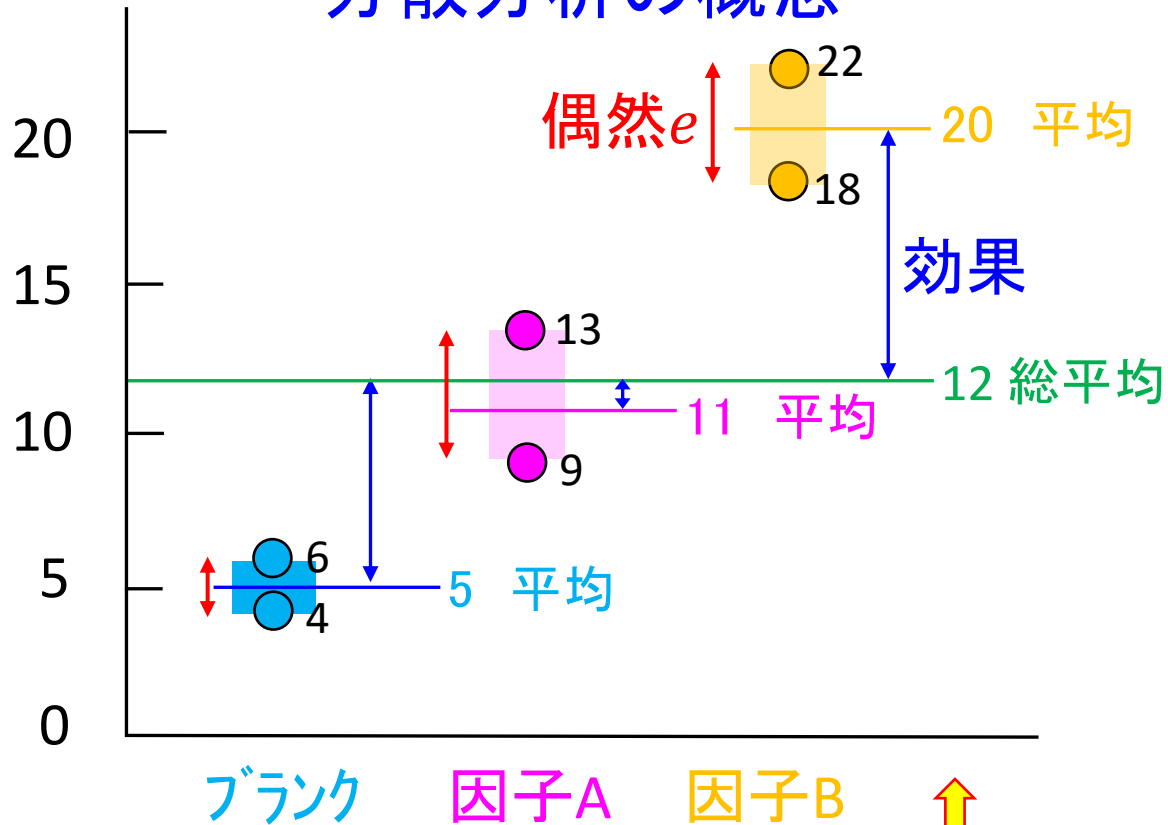
$$\text{相対標準偏差} = \frac{\sigma}{\text{平均値}}$$

$$\text{室内再現精度} \sigma = \sqrt{\frac{V_A + (n-1)V_e}{n}}$$

$$\text{室内再現精度} \sigma \text{ の信頼区間 } \sqrt{\frac{\phi \times V}{\chi^2(\phi_e, \frac{\alpha}{2})}} \leq \sigma \leq \sqrt{\frac{\phi \times V}{\chi^2(\phi_e, 1 - \frac{\alpha}{2})}}$$

$$\text{自由度 } \phi = \frac{n^2 \times V^2}{\frac{V_A^2}{\phi_A} + \frac{(n-1)^2 \times V_e^2}{\phi_e}}$$

分散分析の概念



	群1	...	群j
反復1	x_{11}	...	x_{1j}
⋮	⋮	⋱	⋮
反復i	x_{i1}	...	x_{ij}
群平均	\bar{x}_1	...	\bar{x}_j

総平均
 \bar{x}

	Blank	因子A	因子B	
1	4	13	22	
2	6	9	18	総平均
群平均	5	11	20	12

検定統計量(F値) = $\frac{\text{群間変動の不偏分散}}{\text{群内変動の不偏分散}} = \frac{114}{6} = 19$

$$\sum \sum (x_{ij} - \bar{x})^2 = i \sum (\bar{x}_j - \bar{x})^2 + \sum \sum (\bar{x}_{ij} - \bar{x}_j)^2$$

総平均からの偏差

Blank	因子A	因子B
4-12	13-12	22-12
6-12	9-12	18-12

Blank	因子A	因子B
$(-8)^2$	$(1)^2$	10^2
$(-6)^2$	$(-3)^2$	6^2

$64 + 36 + 1 + 9 + 100 + 36 = 246$

①偏差を算出

群間の偏差

Blank	因子A	因子B
5-12	11-12	20-12
5-12	11-12	20-12

②偏差を2乗する

Blank	因子A	因子B
$(-7)^2$	$(-1)^2$	8^2
$(-7)^2$	$(-1)^2$	8^2

③平方和 → 変動算出

$49 + 49 + 1 + 1 + 64 + 64 = 228$

$246 = 228 + 18$

④不偏分散算出

$228 / (3 - 1) = 114$

自由度: 群数(3) - 平均(1)

群内変動

群内の偏差

Blank	因子A	因子B
4-5	13-11	22-20
6-5	9-11	18-20

Blank	因子A	因子B
$(-1)^2$	2^2	2^2
1^2	$(-2)^2$	$(-2)^2$

$1 + 1 + 4 + 4 + 4 + 4 = 18$

$18 / (6 - 3) = 6$

自由度: データ数(6) - 平均(3)

F検定

$$\text{検定統計量 (F値)} = \frac{\text{群間変動の不偏分散}}{\text{群内変動の不偏分散}} = \frac{114}{6} = 19$$

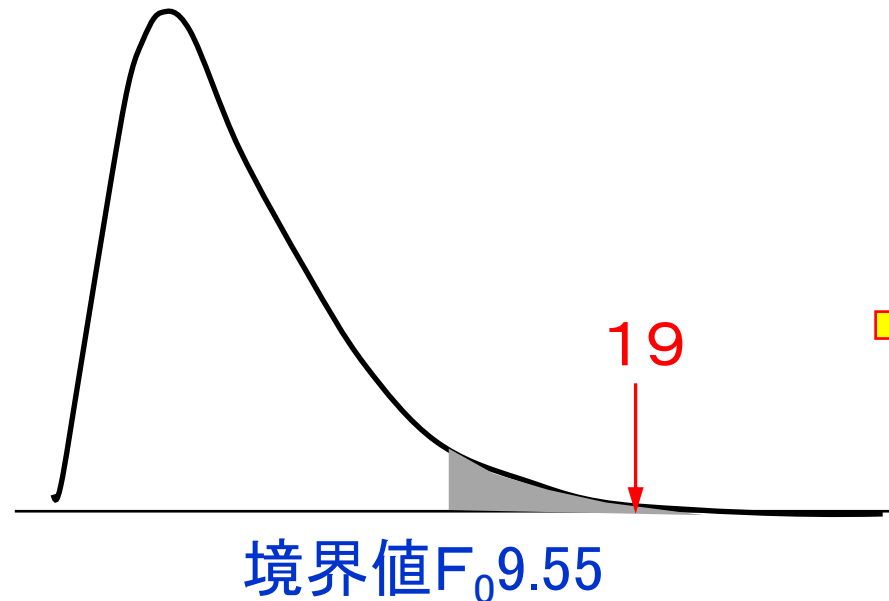
自由度

分子: $2 = \text{群数}(3) - \text{総平均}(1)$

分母: $3 = \text{データ数}(6) - \text{群平均}(3)$

Excel関数を用い境界値 F_0 算出

$$\text{FINV}(0.05, 2, 3) = 9.55$$



因子の効果があるといえる

検証したいこと

偶然誤差が小さい → 併行精度が許容範囲内 ← 相対標準偏差が2%以内
室内の種々の条件があっても、再現性のばらつきが許容範囲内 ← 相対標準偏差が2%以内

	自由度 ϕ	不偏分散	$E[V]$
効果	$m - 1$	V_A	$\sigma_e^2 + n\sigma_A^2$
誤差	$m(n - 1)$	V_e	σ_e^2
全体	$mn - 1$		—

因子の数 (blue) 繰返し回数 (green)

併行分散 = V_e → 併行精度 = $\sqrt{V_e} = \sigma_e$

純粋な室内分散 = $\frac{V_A - V_e}{n}$

室内再現分散 $V = (\text{併行分散}) + (\text{純粋な室内分散}) = V_e + \frac{V_A - V_e}{n} = \frac{V_A + (n-1)V_e}{n}$

室内再現精度 $\sigma = \sqrt{\frac{V_A + (n-1)V_e}{n}}$

3濃度3繰り返し測定

添加率 (%)	成分A添加量 (w/v%)	繰り返し	標準溶液			試料溶液			成分A含量 (w/v%)	回収率 (%)
			成分Aピーク面積	内標準成分ピーク面積	ピーク面積比 Q_s	成分Aピーク面積	内標準成分ピーク面積	ピーク面積比 Q_T		
80	0.0000	1	944378	1093871	0.8633	719236	1096792	0.6558	0.0000	100.1
		2				718255	1097174	0.6546	0.0000	100.0
		3				718512	1096652	0.6552	0.0000	100.0
100	0.0000	1				897158	1098651	0.8166	0.0000	99.8
		2				895950	1098002	0.8160	0.0000	99.7
		3				894747	1097974	0.8149	0.0000	99.5
120	0.0000	1				1074004	1089491	0.9858	0.0000	100.4
		2				1057407	1078640	0.9803	0.0000	99.8
		3				1066961	1086019	0.9825	0.0000	100.0

相対標準偏差: $0.20 \leq 2\% \rightarrow$ 適合

平均値	99.9
標準偏差 σ	0.2000
相対標準偏差 SR%	0.20 = $\frac{0.2000 \times 100}{99.9}$

分散分析: 一元配置

概要

グループ	データの個数	合計	平均	分散
80%	3	300.1	100.033	0.00333
100%	3	299	99.667	0.02333
120%	3	300.2	100.067	0.09333

分散分析表

変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.2956	2	0.148	3.694	0.09	5.14
グループ内	0.2400	6	0.040			
合計	0.5356	8				

α	0.1
自由度 (ϕ_e)	6
分散 (V_e)	0.040
$\chi^2(\phi, \alpha/2)$	12.59
$\chi^2(\phi, 1-\alpha/2)$	1.635
$0.1381 \leq \sigma \leq 0.3831$	

併行精度 σ の信頼区間

$$\sqrt{\frac{\phi_e \times V_e}{\chi^2(\phi_e, \frac{\alpha}{2})}} \leq \sigma \leq \sqrt{\frac{\phi_e \times V_e}{\chi^2(\phi_e, 1 - \frac{\alpha}{2})}}$$

		試薬	標準溶液			試料溶液			成分A含量 (w/v%)	対表示量 (%)
			成分Aピーク面積	内標準成分 ピーク面積	ピーク面積比 Q_s	成分Aピーク 面積	内標準成分 ピーク面積	ピーク面積 比 Q_T		
室内再現条件	1	a	965097	1118556	0.8628	917877	1123631	0.8169	2.1967	99.9
						920531	1125204	0.8181	2.2000	100.0
	2	b	1019595	1167982	0.8730	964869	1163677	0.8292	2.2037	100.2
						965320	1161910	0.8308	2.2080	100.4
	3	b	958582	1106233	0.8665	906761	1104630	0.8209	2.1978	99.9
						908771	1106747	0.8211	2.1985	99.9
	4	a	1020429	1169832	0.8723	964966	1168258	0.8260	2.1970	99.9
						964463	1170894	0.8237	2.1910	99.6
	5	a	952745	1102286	0.8643	909082	1112467	0.8172	2.1936	99.7
						902384	1100912	0.8197	2.2003	100.0
	6	b	1017047	1164887	0.8731	969267	1168655	0.8294	2.2039	100.2
						966255	1166057	0.8287	2.2020	100.1
対表示量の総平均									100.0	

実験順序

条件	試験日	試験者	装置	試薬
1	1日目	A	α	a
2	2日目	A	β	b
3	3日目	A	α	b
4	4日目	B	β	a
5	5日目	B	α	a
6	6日目	B	β	b

	1	2	3	4	5	6
1	99.9	100.2	99.9	99.9	99.7	100.2
2	100	100.4	99.9	99.6	100	100.1

一元配置分散分析(次ページ参照)

室内再現精度	標準偏差 σ	相対標準偏差 $S_R(\%)$	自由度 ϕ	標準偏差の信頼区間(90%)
	0.2273	0.23	7	$0.1603 \leq \sigma_{**} \leq 0.4082$

相対標準偏差: $0.23 \leq 2\% \rightarrow$ 適合

室内再現精度 $\sigma = \sqrt{\frac{V_A + (n-1)V_e}{n}}$ $V = \sigma^2 = 0.0517$

VA: 要因Aの分散 = S_A / ϕ_A
n: 繰り返し数 (2)
Ve: 誤差eの分散 = S_e / ϕ_e

室内再現精度 σ の信頼区間 $\sqrt{\frac{\phi \times V}{\chi^2(\phi_e, \alpha/2)}} \leq \sigma \leq \sqrt{\frac{\phi \times V}{\chi^2(\phi_e, 1-\alpha/2)}}$

自由度 $\phi = \frac{n^2 \times V^2}{\frac{V_A^2}{\phi_A} + \frac{(n-1)^2 \times V_e^2}{\phi_e}}$

V_A	0.0833
V_e	0.02
$\chi(\phi_e, \alpha/2)$	14.07
$\chi(\phi_e, 1-\alpha/2)$	2.17
α	0.1
自由度(ϕ)	7

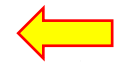
n	2
ϕ_A	5
ϕ_B	6
ϕ	7.3
ϕ	7

(ただし、小数点以下は切り捨て)

Excel関数
=CHIINV($\alpha/2$, 自由度)
=CHIINV($1-\alpha/2$, 自由度)

分散分析: 一元配置

グループ	データの個数	合計	平均	分散
1	2	199.9	99.95	0.005
2	2	200.6	100.3	0.02
3	2	199.8	99.9	0
4	2	199.5	99.75	0.045
5	2	199.7	99.85	0.045
6	2	200.3	100.15	0.005



繰返し

	試験日					
	1	2	3	4	5	6
1	99.9	100.2	99.9	99.9	99.7	100.2
2	100	100.4	99.9	99.6	100	100.1

変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.4167	5	0.0833	4.17	0.055764	4.39
グループ内	0.1200	6	0.02			
合計	0.5367	11				