2-5 FUMI の式による相対標準偏差の算出

こうして、ベースラインノイズを上述した 3 つのパラメーターで表される確率過程として記述することができた。この過程の和である面積変動の分布は、数学的に導くことができる。このときには、いくつのポイントを足すかが必要である。当然ながら、多くのポイントの和の変動は、少ないポイントの和の変動よりも大きい。クロマトグラフィーで考えれば、幅の広いピークの変動は、幅の狭いピークの変動よりも大きくなる。つまり、ベースラインによる面積変動は、ピークの幅によって異なるため、実際のピークの面積（高さ）精度を推定するためには、ピークの形（ピークの始まりから終わりまでのポイント数）が必要である。これは、目的とするピークを実際に測定して求める。この時点でピーク面積の SD はわかるが、ある濃度のピークの精度を RSD として求めるためには、そのピークの面積（高さ）が必要である。これも、実測しなくては得られない。従って、FUMI 理論での精度推定においても、1 回のクロマトグラムの測定は必須である。

FUMI 理論に基づくノイズパラメーターを利用した RSD の算出においては以下のように取り扱う。もし、ホワイトノイズのみが誤差の原因であるならば、測定値の RSD は式(5)のように表される。

$$\mathrm{RSD}^2 = k_f \tilde{w}^2 / A^2 \qquad (5)$$

ここで、$\tilde{w}$ はホワイトノイズの SD、A は領域[1, k_f]におけるピーク面積とする。

マルコフ過程においては、領域[1, k_f]におけるベースラインノイズが作る偽りの面積 R は次のように表すことができる。

$$\begin{aligned} R &= \sum_{i=1}^{kf} r(t) \\ &= \left(1+\rho+\rho^2+\cdots+\rho^{kf-1}\right)m(1)+ \\ &\left(1+\rho+\rho^2+\cdots+\rho^{kf-2}\right)m(2)+\cdots \\ &+(1+\rho)m(k_f-1)+m(k_f) \end{aligned} \qquad (6)$$

ここで、$r(t)$ は、データポイント t のベースラインの強度とする。

マルコフ過程に使われているホワイトノイズ $m(i)$ の平均がゼロであるから、偽りの面積の平均（E[R]）もまたゼロである。

$$E[R] = 0 \qquad (7)$$

一方、マルコフ過程の偽りの面積の分散は、次のように表される。

$$\begin{aligned} E\left[R^2\right] &= \left(1+\rho+\rho^2+\cdots+\rho^{kf-1}\right)^2 \tilde{m}^2 \\ &+\left(1+\rho+\rho^2+\cdots+\rho^{kf-2}\right)^2 \tilde{m}^2+\cdots \\ &+(1+\rho)^2 \tilde{m}^2+\tilde{m}^2 \end{aligned} \qquad (8)$$

この式は、次のように書きかえられる。

$$E[R^2]=\left[\sum_{t=1}^{kf}\left(\frac{1-\rho^t}{1-\rho}\right)^2\right]\tilde{m}^2$$
$$=\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2}\left(k_{\mathrm{f}}-2\rho\frac{1-\rho^{kf}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2kf}}{1-\rho^2}\right) \tag{9}$$

従って、RSD は次のように表すことができる。

$$\mathrm{RSD}^2$$
$$=\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}\left(k_{\mathrm{f}}-2\rho\frac{1-\rho^{kf}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2kf}}{1-\rho^2}\right) \tag{10}$$

ベースラインノイズがホワイトノイズとマルコフ過程の和で表されるのならば、ホワイトノイズの分散とマルコフ過程の分散を加算することによって RSD を表すことができる。

$$\mathrm{RSD}^2=\frac{k_{\mathrm{f}}\tilde{w}^2}{A^2}$$
$$+\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}(k_{\mathrm{f}}-2\rho\frac{1-\rho^{kf}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2kf}}{1-\rho^2}) \tag{11}$$

もし、HPLC や電気泳動のように試料の注入誤差を加味した RSD を求める場合、誤差の伝播法則に従い、注入誤差の RSD(I)の二乗を加算することで、求めることができる。

$$\mathrm{RSD}^2=\frac{k_{\mathrm{f}}\tilde{w}^2}{A^2}$$
$$+\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}(k_{\mathrm{f}}-2\rho\frac{1-\rho^{kf}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2kf}}{1-\rho^2}) \tag{12}$$
$$+I^2$$

式(12)を以降、FUMI の基本式と呼ぶ。高濃度の試料を注入しピークが高く現われる場合、A が大きくなるためにノイズが測定精度に及ぼす影響より、注入誤差が大きく影響するので、ホワイトノイズの分散とマルコフ過程の分散の項(右辺第 1 項と第 2 項)はほとんど無視できる。一方、低濃度の試料を注入した場合、ピークに対してノイズの与える影響が大きいので、注入誤差はほとんど無視することができる。

クロマトグラムにおいてピーク面積を求める時、図 23 に示すように区間[k_{c+1}, k_d]における積分値をピーク面積にする場合がある。これを考慮した FUMI の基本式は、式(13)として表すことができる [6]。

$$\mathrm{RSD}^2=\frac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})\tilde{w}^2}{A^2}+\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}\left[k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c}-2\rho\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2(k\mathrm{d}-k\mathrm{c})}}{1-\rho^2}\right]+\frac{\tilde{m}^2}{A^2}\left[\rho^2\frac{1-\rho^{2k\mathrm{c}}}{1-\rho^2}\left(\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}\right)^2\right]+I^2 \tag{13}$$

ここで、k_{c+1} は積分区間の開始点、k_d は積分区間の終了点とする。式(13)においてピークが立ち上がる点 k_0 から k_c が大きく離れている場合に、第 3 項は測定精度推定に大きく影響する。

さらに、ピーク面積の選び方として、図 23(a)に示したようにゼロラインを固定して積分する水平線モードと、図 23(b)に示したようにシグナル領域の開始点から終了点までを結んだ線をゼロラインとして積分する斜線モードがある。ベースラインがピーク幅あるいはこれ以上の区間で変動している場合、斜線モードでピーク面積を求めることにより、誤差が小さくなると考えられる。斜線モードでの FUMI 理論による測定精度推定は、式(13)に式(14)の第 4 項、第 5 項を加えことで可能となる [6]。

$$\mathrm{RSD}^2=\frac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})\tilde{w}^2}{A^2}+\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}\left[k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c}-2\rho\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2(k\mathrm{d}-k\mathrm{c})}}{1-\rho^2}\right]+\frac{\tilde{m}^2}{A^2}\left[\rho^2\frac{1-\rho^{2k\mathrm{c}}}{1-\rho^2}\left(\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}\right)^2\right]$$
$$+\frac{\beta^2\tilde{w}^2}{A^2}+\frac{\tilde{m}^2}{A^2}\left\{\beta^2\frac{1-\rho^{2k\mathrm{e}}}{1-\rho^2}-2\beta\left[\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}\rho^{k\mathrm{e}+k\mathrm{c}-1}\times\frac{1-\rho^{-2k\mathrm{c}}}{1-\rho^{-2}}+\sum_{i=1}^{kd-kc}\left(\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}+1-i}}{1-\rho}\rho^{k\mathrm{e}-k\mathrm{c}-i}\right)\right]\right\}+I^2 \tag{14}$$

ここで、$\beta=\dfrac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})(k_\mathrm{d}+k_\mathrm{c}+1)}{2k_\mathrm{e}}$、$k_e$ はシグナル領域の終了点とする。

ピーク面積を算出するためのゼロラインを決定するには、HPLC のインテグレーターでも通常行われていることだが、ピークが立ち上がる前のベースラインノイズデータを平均している。この平均に使われるノイズデータの領域をゼロウィンドウと呼び、図 23 に例を示した。ゼロウィンドウのばらつきが測定精度推定に与える影響は、式(15)の第 6 項と第 7 項で表される [7]。

$$\mathrm{RSD}^2=\frac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})\tilde{w}^2}{A^2}+\frac{\tilde{m}^2}{(1-\rho)^2A^2}\left[k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c}-2\rho\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2(k\mathrm{d}-k\mathrm{c})}}{1-\rho^2}\right]+\frac{\tilde{m}^2}{A^2}\left[\rho^2\frac{1-\rho^{2k\mathrm{c}}}{1-\rho^2}\left(\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}\right)^2\right]+\frac{\beta^2\tilde{w}^2}{A^2}$$
$$+\frac{\tilde{m}^2}{A^2}\left\{\beta^2\frac{1-\rho^{2k\mathrm{e}}}{1-\rho^2}-2\beta\left[\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}}}{1-\rho}\rho^{k\mathrm{e}+k\mathrm{c}-1}\times\frac{1-\rho^{-2k\mathrm{c}}}{1-\rho^{-2}}+\sum_{i=1}^{kd-kc}\left(\frac{1-\rho^{k\mathrm{d}-k\mathrm{c}+1-i}}{1-\rho}\rho^{k\mathrm{e}-k\mathrm{c}-i}\right)\right]\right\}$$
$$+\frac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})\tilde{w}^2}{zA^2}+\frac{(k_\mathrm{d}-k_\mathrm{c})^2\tilde{m}^2}{z^2(1-\rho)^2A^2}\times\left(z-2\rho\frac{1-\rho^z}{1-\rho}+\rho^2\frac{1-\rho^{2z}}{1-\rho^2}\right)+I^2 \tag{15}$$

ここで、z はゼロラインを求めるために使用する
ゼロウィンドウのデータ数とする。式(15)を以降、
FUMI の式と呼ぶ。