저농도 물질 측정분석의 검출한계, 정량한계 및 그 이하 자료 처리

윤충식 (대구가톨릭대학교 산업보건학과)

I. 서론

우리나라의 산업보건역사에서 작업환경측정기관에 대한 정도관리제도의 도입은 정도관리가 측정에 대한 능력을 검정하지 못한다는 점, 실제 채취시료 분석때와 동일하게 취급하지 않는다는 점등 여러 비평이 있음에도 불구하고, 측정기관의 분석 능력의 향상을 가져왔음은 자명하다. 즉 실험실의 분석능력이 그간 상당히 향상되었고, 이제는 참여기관의 95%이상 항상 합격판정을 받고 있다는 측면에서 긍정적으로 평가할 수 있다.

그간 측정기관 및 산업위생학계에서는 순수한 분석화학의 아주 미량 분석과는 달리 허용기준의 1/10수준만 측정하면 되는 것으로 하여 검출한계 및 정량한계의 개념을 많이 무시하였다.

산업보건분야에서 저농도의 분석적인 측면을 고려하여 보면 다음 두가지 측면에서 고찰하여 볼수 있다. 첫째는 미량물질의 분석이 가능해졌다는 점이다. 과거 70-80년대에 비하여 분석기기의 발달, 특히 미량분석이 가능한 기기의 개발 및 보급으로 인해 미량분석에 대한 접근성이 높아졌다. 그러나 이런 미량분석이 가능하다 해도 여전히 그 분석기기의 검출한계는 존재한다. 따라서 아무리 미량분석이 가능한 기기라 하더라도 이에 대한 논의는 충분히 이루어져야 한다. 둘째는 산업보건분야 또는 환경분야에서 저농도 물질에 대한 관심이 높아지고 있다. 예를 들어 벤젠의 경우 과거 허용기준이 10 ppm일때 허용기준 초과여부 또는 허용기준의 1/10정도를 분석하는 것은 별로 어렵지 않았다. 그러나 허용기준이 1 ppm으로 낮아졌기 때문에 미량분석과 검출한계에 대한 재고를 하여야 한다. 벤제의 예를 정도관리와 연관시켜보면 다음과 같다.

표 1. 새로 개정된 벤젠의 노출기준을 예로 들어본 정도관리 시료 분석량

노출기준		24L 공기(0.2 L/분x120분)에 포함된 양, ㎎	노출기준 0.1배, ㎎	노출기준 2배, ㎎	노출기준 0.1배수준에서 1 ml 탈착 후 GC 주입량 1 ㎕	
ppm	㎎/㎥				Splitless mode, 검출기에 도달량, ng	Split ration 20:1 검출기도달량, ng
10	32	0.768	0.0768	1.536	76.8	3.84
1	3.2	0.0768	0.00768	0.1536	7.68	0.384

일반적으로 탄소화합물에 대한 FID의 검출한계는 pg에서 ng사이에 있다고 할 수 있는데 위표 1에서 보면 작업장 허용기준이 1ppm수준의 1/10수준에서 거의 검출한계영역에 들어옴을 알 수 있다. 더구나 확산식모니터인 경우 시료채취속도(Sampling rate)가 낮아(예를 들어 3M 3500인 경우 35.5 ml/min)로 장시간 시료채취하지 않으면 작업장을 제대로 평가하기가 힘들다.

대표적인 발암성 중금속인 불용성 6가 크롬인 경우도 현재 우리나라 노출기준은 0.5 ㎎/㎥인데 ACGIH의 TLV는 0.01 ㎎/㎥으로 낮춰졌고, 현재 OSHA는 모든 6가 크롬에 대하여 PEL을 0.001 ㎎/㎥(1 ㎍/㎥)으로 개정하려 의견을 청취하고 있다.

1999년 발표한 논문(윤충식 등, 1999)에서 6가 크롬의 검출한계를 구해본 결과 분광광도계, 원자흡광광도계, 이온크로마토그래피가 각각 0.33, 0.30, 0.17 ㎍/시료인 것을 감안하여 보면 저농도에서의 명확한 개념설정, 즉 검출한계 정량한계 논의는 매우 중요하다고 할 수 있다.

표 2. 6가 크롬의 허용기준

기관	노출기준		비고
노동부	불용성 6가 크롬	0.05 ㎎/㎥	분광광도계 : 0.33 ㎍ 원자흡광광도계:0.30㎍ 이온크로마토그래피:0.17 ㎍
	수용성 6가 크롬	0.05 ㎎/㎥	
ACGIH	불용성 6가 크롬	0.01 ㎎/㎥	
	수용성 6가 크롬	0.05 ㎎/㎥	
OSHA	모든 6가 크롬	0.001 ㎎/㎥로 제안 2006년 확정예정	

따라서 사업장 측정 시료를 분석하였을때 때 검출되지 않는다고 하여 그 오염물질이 존재하지 않는다고 하는 것은 잘못된 결론을 유도할 수

있다. 예를 들어 농도가 낮게 존재할 때 공기채취량을 적게 하면 검출이 되지 않거나 또는 검출한계보다 낮은 농도에서도 건강위험성을 주는 물질이 있기 때문이다. 또한 측정결과를 노출기준과 단순 비교할때는 노출기준의 1/10정도만 분석하면 충분할지 몰라도 최근에 많이 거론되는 위해도 평가(risk assessment)를 할 때는 낮은 농도로 존재하는 물질이 어느 정도 위해도를 가지고 있는지, 그리고 검출한계이하의 농도를 어떻게 처리할 것인가가 중요하다.

일반 환경 중에서는 검출한계 수준에서의 농도가 허용기준으로 되어있는 경우도 있다. 실내공기질에 대한 기준은 작업장 기준보다 현저히 낮은데(표 3) 이에 대한 분석에서 저농도 평가는 중요할 수밖에 없다.

표 3. 작업장 허용기준과 실내공기질 기준비교

인자	노동부 작업장 노출기준	노동부 사무실 기준		환경부, 다중이용시설등에 관한 실내공기질관리법	
		기준	비고	기준	비고[A]
CO_2(ppm)	5000	1000	8시간	1000	-
CO(ppm)	25	10	8시간	10	-
HCHO	1	0.1 ppm	8시간	120㎍/㎥	-
호흡성분진, PM10(㎍/㎥)	0.05-2 mg	150	8시간	150	12개시설[B]
				100	4개시설[C]
				200	1개시설[D]
총부유세균				800	4개시설
NO_2(ppm)	3			0.05	12개시설
				0.05	4개시설
				0.3	1개시설
라돈(pCi/ℓ)				4.0	-
석면(개/cc)	0.1			0.01	-
TVOC(㎍/㎥)				500	12개시설
				400	4개시설
				1000	1개시설
오존(ppm)	0.1			0.06	12개시설
				0.06	4개시설
				0.08	1개시설

A: 시간에 대한 개념 미설정

B: 지하역사, 지하도상가, 여객자동차터미날의 대합실, 공항시설중 여객터미널, 항만시설중 대합실, 철도역사의 대합실, 도서관, 박물관, 미술관, 장례식장, 찜질방, 대규모점포

C: 의료기관, 보육시설, 노인복지시설, 산후조리원, D: 지하주차장

미국환경보호청(EPA)에서는 위해도 평가를 수행할 때 검출한계(LOD)근처의 자료를 잘못처리하는 경우가 많은데 예를 들어 검출한계의 표기누락, 검출한계의 정의가 모호, 검출되지 않음을 0으로 잘못처리한다고 하였다(EPA, 1999).

우리나라 작업환경측정기관에서도 아주 낮은 농도를 분석할 때 자료의 처리에 곤란을 겪고 있다. 대부분의 측정보고서에서는 아주 낮게 검출되는 농도(또는 정량하기 어려운 농도수준)에 대해서는 '미검출', '불검출', '흔적', 'ND', 'Non-Detectable', 'Trace' 등으로 표기하고 있으나 이에 대한 명확한 정의나 논의가 없는 것 같다. 또한 물질안전보건자료상 여러 물질이 나와 있는데 실제 분석을 할 때 검출이 되지 않을 때 이를 '없다'고 표기하여야 하나 아니면 '검출안됨' 또는 '흔적'이라고 하여야 하는가 등의 논란의 여지가 있다.

다른 예로는 크로마토그램상에서 피크가 있기는 한데 머무름 시간이 나와있지 않아 가스크로마토그래피 운영체제가 이를 인식 못하는 경우 이를 어떻게 처리하여야 하는가가 현실적인 문제로 부딪힌다.

또한 실험실에서 LOD와 LOQ를 구하였다고 하여도 작업장이나 일반 공기시료를 채취한 경우는 공기 채취량에 따라 이를 보정할 필요가 있는지가 논의될 수 있다. 즉, 공기채취량에 따른 LOD와 LOQ의 적용은 분석기기상의 그것과 다를 수 있다. 이런 경우 어떻게 하여야 하는가?

외국의 화학분석분야에서도 LOD와 LOQ는 많은 학자나 단체에서 그 개념은 동일하게 사용하고 있지만 구체적인 정의가 매우 다양하고, 결정하는데 필요한 변수, 변수의 정의, 계산 방법, 결정방법이 통일되지 않아서 많은 혼란이 되고 있다(J. Trallero, 1999, D. Coleman et al, 1997).

LOD나 LOQ를 꼭 결정하여야 할 때는 분석방법을 평가하거나 (J. Trallero, 1999; J. Vial and A Jardy, 1999), 동일 분석물질에 대한 여러 가지 다른 분석방법의 특성비교나 새 기기를 이용하여 분석할때의 가이드로서 중요한 인자가 되기 때문이다(R. Boque et al. 1999). EPA는 risk assessment 시 꼭 LOD를 표기하도록 하고 있다.

이런 문제점이 있음에도 그간 우리나라 산업보건계에서는 이에 대한 논의가 제대로 안된 것 같다. 본 논고가 위에 언급한 문제들에 대하여

확실하고 명쾌한 결론을 줄 수는 없지만 이에 대한 논의의 출발점을 제공하고자 한다. 따라서 본 논고의 목적은 LOD와 LOQ의 개념과 정의를 고찰하고 실제 여러 기관에서 사용하는 계산방법을 소개하고 각 방법의 장단점을 고찰하고자 한다. 그리고 일부분 실제 자료를 가지고 LOD와 LOQ를 구하는 것을 적용할 것이다.

II. 방법

1. 이론고찰

인터넷과 주요 관련 논문을 검토하였다. 원칙적으로 IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)와 ACS(American Chemical Society)의 개념을 도입하였으며 이를 바탕으로 몇몇 관련기관에서 사용하고 있는 계산방법을 응용하였다. 이중에서 아주 어려운 개념은 제외하고 현실적으로 적용가능한 방법으로 설명하고자 하였다. 개념적으로 보면 검출한계, 정량한계는 다음 그림 1과 같이 표현할 수 있다. 더 자세한 정보를 원하는 독자는 인용한 참고문헌을 읽어보기를 권장한다.

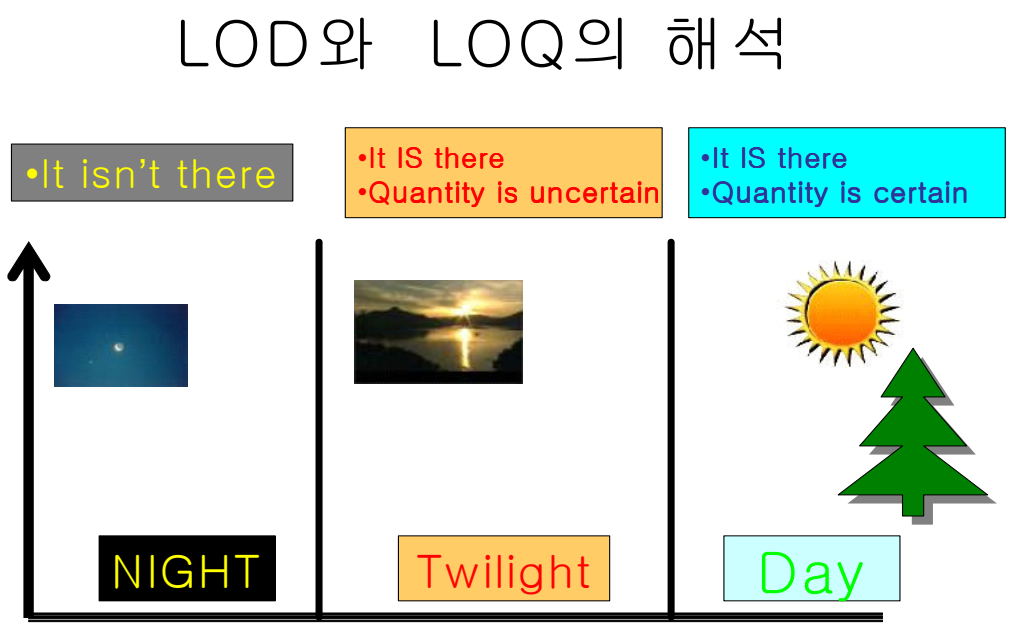


그림 1. LOD와 LOQ의 개념.

2. 몇몇 기관의 계산방법

몇 기관에서 나름대로 정의하고, 실제로 이용하고 있는 LOD와 LOQ를 구하는 방법을 소개하였다.

3. 계산적용 :

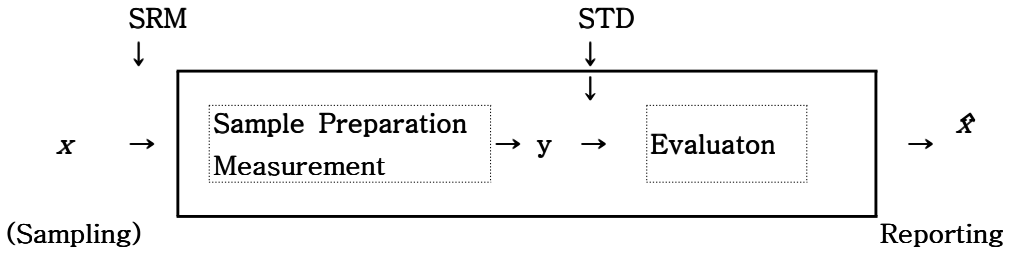
위에 소개된 방법 중 일부를 과거에 우리 실험실에서 실험한 자료를 이용하여 적용하여 보았다. 원칙적으로는 LOD와 LOQ를 구하기 위하여는 실제분석시료와 똑같은 방법으로 실험하되 시료나 검량선 작성용 용액을 따로만들어 실험하여야 하나(일상적인 분석보다 더 낮은 농도에서 실험하기를 권장하는 기관이 많음) 본고에 제시된 자료는 과거에 저장했던 자료를 불러와 이용한 것이다(계산하는 방법을 예시하여 적용하는 것에 중점을 둠).

III. 결과

1.이론적 고찰결과

(1) 측정분석과정의 요소

검출한계와 정량한계의 개념을 설명하기에 앞서 먼저 화학분석의 일반절차에 대해서 고찰하여 보자. 이 개념은 IUPAC(Currie, 1995)의 CMP(Chemical Measurement Process)를 작업환경측정에 맞게 약간 수정하여 해석한 것이다.



$$y = B + Ax + e_y$$

y = signal, A = sensitivity, B = blank, e_y = measurement error

Fig. 2. Schematic Diagram of the Chemical Measurement Process

위 그림에서 x는 우리가 측정하여 분석하고자 하는 물질의 양이다. 이를 대개는 펌프를 사용하여 시료 채취한 다음 실험실에서 분석과정(CMP)을 거치게 되는데 위 그림에서 CMP는 크게 두 부분으로 나뉜다. 하나는 왼쪽 점선 박스에 표시한 것으로 시료를 전처리하여 기기로 분석하는 단계로 이는 미지의 농도를 기기의 시그널(signal) 또는 응답(response) y로 바꾸는 과정이다. 다른 한 과정(오른쪽 점선 박스)은 이 y값을 다시 역으로 추정하여 참농도 x의 추정치인 $\hat{x}$를 구하는 과정이다(회귀직선을 이용하는 방법을 많이 사용한다.)

이 분석과정(실선박스)에는 여러 측정절차가 포함되는데 예를 들어 시료의 용해(dissolution), 분리(separation), 정제(purification), 분석기기로의 측정, 농도를 구하는 알고리즘이 포함된다. 때로는 여기에 반복측정, 기기보정, 공시료추정 등이 포함되기도 한다.

실험실에서 LOD와 LOQ를 구할 때는 실선박스안의 전반적인 흐름이 관여한다. 작업환경을 측정할 때는 시료채취부분(sampling)이 더 관여한다. 즉, 실선박스안의 과정에서는 공기중 시료를 채취하는것(측정시간, 펌프유량, 포집효율등의 sampling관여요소)는 고려하고 있지 못하다. 본 논의에서도 시료채취과정은 나중에 언급하고자 하는데 그 이유는 LOD나 LOQ의 개념을 논하는 것이 처음 분석화학분야에서 시작되었고 이 논의과정에서는 공기시료채취의 개념보다는 실험실에서의 분석과정만 언급되었기 때문이고, 또한 LOD나 LOQ를 구하는 많은 방법이 공시료나 표준용액으로부터 구하게 되는데 이는 시료채취과정이 없기 때문이다. 때로는 기기의 분석(instrumental measurement)만이 관심의 대상이 될 수가 있다. 이는 작업환경측정분야에서 보면 주로 직독식 기기인데 이런 경우 우리가 시료를 전처리 하거나 자료를 처리하여 농도를 구하기보다는 기기 자체가 수행하므로 기기제조회사에서 권고하는 검출한계나 민감도를 사용하게 된다. 그러나 이럴 경우라도 실제 측정하는 조건과 제조회사의 권고하는 값은 차이가 있을 수밖에 없으나 여기서는 논외로 한다.

많은 논문에서는 LOD나 LOQ를 분석물질량/공기량(예, $\mu g/m^3$)으로 표시하기도 하는데 이는 실험실에서 구한 LOD나 LOQ를 공기채취량(여러 개의 시료를 채취하였는데 각각의 공기채취량이 다를 때는 극단값을 제외하고 평균 공기채취량을 사용함)으로 보정한 것이다.

(2) 검출한계(LOD)의 개념[1)]

① 용어

'검출한계' 라는 용어는 흔히 Detection Limit을 말한다. 그러나 검출한계에 대한 용어는 DL(Detection Limit, Roy L, 1991; FDA, 1999; David et al, 1997; WCAS), LOD(Limit Of Detection, J Mocak et al, 1997; Jordi et al, 1999; NIOSH, 1991; Jerome et al, 1999), MDL(Method Detection Limit, Standard Method) 등의 용어로 혼용되어 쓰여지고 있고 정의도 약간씩 다르다. 그러나 일반적으로는 LOD라는 용어를 많이 사용한다. 그리고 이런 용어에 대한 정의는 IUPAC와 ACS의 정의에서 유래하는 것이 보통이다. 아래에서 언급하고 있듯이 IUPAC에서는 용어의 통일을 기하고자 ISO와 함께 Minimum Detectable Limit(L_D) 또는 Detection Limit를 사용하도록 규정하고 있으나 여기서는 친숙한 LOD를 주로 사용한다.

② LOD의 정의

LOD의 개념에 대해 IUPAC와 ACS는 각각 다음과 같이 정의하고 있다.

·IUPAC : 어느 주어진 분석 절차에 따라 합리적인 확실성을 가지고 검출할 수 있는 가장 적은 농도나 양*(A concentration or quantity, that is derived from the smallest measure that can be detected with reasonable certainty for a given analytical procedure)*

·ACS(American Chemical Society) : 어느 정해진 분석절차로 신뢰성 있게 분석할 수 있는 분석물질의 가장 낮은 농도*(The lowest concentration of an analyte that the analytical process can reliably detect)*

이외에도 많은 문헌에서 LOD의 개념을 정의하고 있다. 주로 환경과 관련된 기관에서의 LOD에 관련된 정의와 관련하여 그 내용을 정리해 보면,

·Standard Method(1992) : '주어진 신뢰수준에서 noise이상으로 검출할 수 있는 가장 최소의 양'.

·분석화학(1998), FDA(1999), Jerome 등(1999), David 등(1997) : '주어진

---

1) 일부 문헌에는 검출한계(Detection Limit)를 LOD와 LOQ를 포함하는 개념으로 보는 경우도 있으나 본고에서는 특별히 규정한 경우를 제외하고는 검출한계는 LOD만을 의미함

신뢰수준에서 시료에 존재하는 분석대상물질의 가장 최소의 양 또는 농도' 라고 표현하여 시료와 동일한 matrix에서의 측정이란 점을 명시하였다.
·EPA(1991)는 '0(ZERO)과 신뢰성 있게 구별될 수 있지만, 적절한 정밀성으로 정량할 수는 없는 가장 낮은 농도'
·NIOSH(1991)는 '평균 blank signal 이상에서 평균 signal이 $3\sigma_b$를 나타내는 농도로 정의하였다. 여기에서 σ_b는 blank signal의 표준편차이다.
·Talyor(1988): LOD란 어떤 측정값이 그 측정값과 관련한 어떤 불확실성보다 클 때 신뢰할 수 있다는 것을 의미한다(A point at which a measurable value becomes believable when it is larger than the uncertainty associated with it.)고 하였다.

☞(참고) DL의 종류를 다음과 같이 나누기도 하나 일반적이지는 않다..
·IDL : 기기가 검출할 수 있는 가장 작은 농도. 이는 시료전처리 과정을 전혀 거치지 않은 분석물질로 측정하는 것이다.
·MDL: IDL과 비슷하나 분석전 모든 전처리과정을 거친 시료를 이용한 검출한계이다.
·PQL(Practical Quantitation Limit) MDL의3에서 10배사이로 단순히 검출되는 것 이상으로 정확히 측정될수 있는 것이다.
이런 DL은 아주 낮은 농도의 시료나 공시료를 반복하여 측정할 수 있다.

(3) 정량한계(LOQ)의 개념

① 용어

LOD는 아래에서 보듯이 통계적인 개념(α오류와 β오류)을 갖고 있으나 LOQ는 이런 통계적인 개념보다는 LOD로부터 3배 또는 3.3배라고 인위적으로 약속한 개념이다. 즉, LOQ는 공시료와 실제 분석물질에 대한 신호의 통계학적인 분리를 위한 LOD 개념을 보충하기 위해 도입되었으며 또한 LOD가 정량분석에서 만족스런 개념을 제공하지 못하기 때문에 도입되었다. 결과적으로 LOQ는 통계적인 개념보다는 일종의 약속이고 이는 LOD의 3배 또는 $y=k\sigma_b$에서 k=10(LOD에서는 k=3)을 도입한 것으로 생각하면 된다. 따라서 실제적으로 LOD의 개념만 이 통계적으로 중요하고 LOQ는 일종의 약속이라고 보면 된다. 가장 많이 사용되는 용어는

LOQ(Limit Of Quantitation)이지만, QL(Quantitation Limit), PQL(Practical Quantitation Limit, Standard Method, 1992), SQL(Sample Quantitation Limit, EPA, 1991)을 사용하기도 한다.

② LOQ의 정의

IUPAC나 ACS에서 이 개념을 설명하고 있지만 뚜렷이 단어로서 정의하고있지는 않고 있다. 두 기관 모두 LOD의 3배 또는 3.3배를 수치적으로 정의하고 있다. 이들 기관에서 설명하고 있는 LOQ의 개념이란 '어느 주어진 분석 절차에 따라서 합리적인 신뢰성을 가지고 정량·분석할 수 있는 가장 작은 양의 농도나 질량이다.*(The smallest concentration or the mass which can be quantitatively analysed with reasonably by a given procedure*)'라고 할 수 있다. 정량한계가 검출한계와 비교하여 가장 큰 차이점은 내용에 정확성과 정밀도가 포함되어 있는 것이다. 몇몇 기관에서 정의하고 있는 정량한계는 다음과 같다.

·FDA(1998) : '주어진 정확성과 정밀도 범위에서 정량할 수 있는 가장 낮은 농도'

·EPA : ' 단지 검출이 아니라 정밀도를 가지고 정량할 수 있는 가장 낮은 농도'라고 정의하였다. 여기에서 정밀도에 대해 EPA는 ±30%의 범위를 언급하였다.

·Jerome 등(1999): '주어진 신뢰수준에서 정량할 수 있는 분석대상물질의 가장 최소의 양',

·NOISH(1991)는 ' 정밀성과 함께 보고할 수 있는 분석대상물질의 가장 최소량' 이라고 각각 표현하였다.

(4) LOD와 LOQ의 최근 용어

국제적으로 용어의 조화를 이루고자 1993년 ISO와 IUPAC에서는 공동으로 검출에 대한 개념을 통일하고 사용용어를 다음처럼 규정하였다.

·Critical Value(L_C) 또는 Critical Level : 배경노이즈(background noise)와 구분하기 위하여 사용되는 어느 추정된 시그널이나 농도의 최소의 유의한 값*(the minimum significant value of an estimated net signal or concentration, applied as a discriminator against background noise).*

Currie는 Lc 란 이 농도이상에서는 검출이 일어날 수 있다고 할 수 있는

가장 최소한의 측정농도라고 설명하였다. 이는 개념적으로 검출한계보다 작은 시그널이나 농도를 의미하며 실제 이 값을 구하기보다는 통계적으로 LOD나 LOQ를 설명하기 위해서 사용된다.

· Minimum Detectable Limit(L_D) 또는 Detection Limit : 위에서 설명한 IUPAC의 정의 참조

· Minimum Quantifiable Value(L_Q) 또는 Quantification Limit : 위의 정의 참조

또한 IUPAC에서는 L_D와 L_Q는 완전하게 정의된 분석방법(예를 들어 방해물질의 형태와 수준, 농도 구하는 알고리즘을 포함한)하에서만 규정될 수 있다고 하였다. 따라서 방해물질이 없거나 기기 자체의 감도(Instrument detection limit)는 각각 해당 영역에서만 유효하다고 할 수 있다. 이상의 개념을 좀더 쉽게 설명하여 보면 다음과 같다.

개념적으로, 미량으로 존재하는 물질을 분석하였을 때 그 물질에 대한 농도, M은 4부분으로 구별할 수 있다. 다음의 그림은 4부분을 그래프로 나타낸 것이다(D. Coleman, 1997).

·(가) 영역 : M은 0과 구별이 되지 않는다. 그러므로 '불검출(non-detect)'로 고려해야 한다.

·(나) 영역 : M은 '검출'로 처리되지만, 이 부분은 신뢰수준이 낮은 경우이다.

·(다) 영역 : M은 '검출'로 처리되고, 이 부분에 존재하는 어떠한 농도수준도 검출은 된다고 보아야 한다. 그러나 측정시 변동이 심해 오차가 심해서 자료를 비교하거나 계산할 때 매우 주의하여야 한다.

·(라) 영역 : M은 '측정 양'을 가지게 되며, 일반적으로 비교와 계산에 사용된다.

(5) LOD의 통계학적인 의미

① LOD에 언급된 유의성에 대하여(α오류와 β오류)

위에서 언급한 LOD(검출한계)의 실제적인 의미는 표현상의 차이에도 불구하고 실제적으로는 'blank의 시그널 값과 유의하게 다른 어떤 낮은 농도(농도 0이 아닌)의 참 시그널 값을 반영하고 있어야 한다'는 것을 의미한다. 여기서 '유의(significant)'하다는 것은 통계학적인 개념을 갖고 있다.

'유의'란 용어를 설명하려면 가설검정과 가설검정의 중요 요소인 α오류(false positive)와 β오류(false negative)의 확률 이론을 알아야 한다. 검출한계(LOD)에서 통계적 개념이란 위의 두 가지의 통계적인 위험인자(α오류와 β오류라고 불림)를 고려하는 것을 의미한다.

② 가설검정이란 ?

가설검정은 통계적 추정의 한 형태이다. 가설이란 '하나 또는 그 이상의 모집단에 대한 기술(description)'로 정의하는데 가설검정이란 이런 가설을 받아들일 것인가 아닌가를 통계적 방법으로 결정하는 것을 말한다. 이를 위하여 통상 귀무가설과 대립가설을 설정한다.

·귀무가설(H_0) : 귀무 가설은 보통 차이가 없다는 것으로 표현하는데 이는 관심의 대상이 되는 모집단이 실제의 상황과 일치한다는 것을 의미한다.

·대립가설(H_A) : 연구자가 원하고자 하는 결론을 옹호하기 위하여 세우는 가설이다.

LOD에 관련해서는 다음과 같은 가설을 갖게 된다.

·H_0 : 공시료의 시그널 값(또는 농도로 표시하며 농도로 표시할 때 이론값은 0)과 아주 낮은 시그널 값(또는 농도, 우리가 구하고자 하는LOD)은 차이가 없다. 또는 LOD 수준에서 분석물질이 존재하지 않는다.

·H_A : 공시료의 시그널 값과 아주 낮은 시그널 값은 차이가 있다. 또는 LOD 수준에서 분석물질이 존재한다.

위의 가설을 검증하기 위하여 우리는 검정통계량이라는 것을 사용하게 되는데 검정 통계량은 일반적으로 다음과 같이 표시한다.

$$\text{검정통계량} = \frac{\text{관련통계량} - \text{가설상의모수}}{\text{관련통계량의 표준오차}}$$

그런데 검정 통계량은 대상 집단이 어떤 분포를 하는가에 의해 결정된다. 여기서는 정규분포를 가정하고 설명해보자. 이는 공시료나 또는 아

주 낮은 시료를 무한히 반복하여 측정하였을 때 그 측정값의 분포는 정규분포(종을 엎어놓은 것처럼 가운데가 높고 양옆이 대칭적으로 낮아지는 분포)를 한다고 가정하는 것이다. 그런데 정규 분포라도 무한갯수 만큼 측정하지 못하므로 실제로는 표본집단에서 측정하게 되고 표본 집단의 정규분포를 가정하게 되는데 이때의 검정 통계량은

$$\text{검정통계량} = \frac{\text{관련통계량} - \text{가설상의 모수}}{\text{관련통계량의 표준오차}} = Z = \frac{X - \mu}{\sigma/\sqrt{n}}$$ 이 된다.

이 검정 통계량의 값에 따라 귀무가설을 기각하거나 수용하게 되는데 이를 결정하는 방법은 우리가 표본에서 산출한 검정 통계량의 값이 기각역에 속해 있으면 귀무가설을 기각하고 그것이 수용역에 속해 있으면 기각하지 못하고 받아들이는 결정방법을 따르게 된다(이에 대해서는 통계학 책 참조).

LOD와 관련해서 설명하여 보면 위에서 구한 통계량이 수용역 상에 있으면 어떤 낮은 농도에서의 시그널값이 공시료(농도가 0)에서의 시그널값과 차이가 없음을 의미하고 기각역상에 있으면 낮은 농도에서의 시그널과 공시료와의 시그널이 차이가 있음을 의미한다.

그러면 수용역과 기각역은 어떻게 설정하는가? 이는 위에서 언급한 α라고 표시하는 유의수준에 따라 결정된다. 유의수준이라는 용어는 가설검정을 유의성 검정이라고 하게 하는 것을 반영하고 있으며 검정 통계량이 기각역에 속할 경우 그것은 유의하다고 한다. 유의 수준 α는 정규 분포 또는 t분포에서 기각역을 이루는 수평축 값의 윗부분과 검정 통계량의 곡선밑에 있는 면적을 의미한다. 결국 α는 확률적인 개념으로서 옳은 귀무가설을 기각할 확률(실제로 공시료 농도와 낮은 분석값의 차이가 없는데 있다고 할 수 있는 확률 또는 분석물질이 없는데 있다고 할 확률)이 된다. 이런 옳은 귀무가설을 기각할 때 저지르는 오류를 제 1종의 오류(type I error) 또는 α오류라고 한다.

이와 반대로 틀린 귀무가설을 받아들일 오류(실제로 공시료 시그널값과 낮은 농도에서의 시그널 값이 차이가 있는데 없다고 할 확률 또는 분석물질이 없는데 있다고 할 확률)를 제 2종의 오류(type II error)또는 β오류라고 한다.

이를 쉽게 설명하면 어떤 LOD 수준에서 α 오류(false positive)란

존재하지 않는 물질이 검출될 확률이고 β 오류(false negative)란 존재하는 물질이 검출되지 않을 확률이다. IUPAC에서는 α, β값을 각각 0.05를 권고하고 있다.

위와 같은 통계적 개념의 도입과 더불어 많은 문헌에서 공시료 시그널의 표준편차에 3배를 해준 값을 LOD라고 설명하고 있는데 이 값은 어떻게 해서 도입되었는가?

③ LOD에 어떻게 해서 $3s_b$(공시료 분석시그널의 표준편차의 3배)가 도입되었는가 ?

다음과 같은 두 가지 설명이 가능하다.

(i) Keiser에 의한 개념의 도입

H. Keiser는 분광화학적 분석에서 통계학적인 개념이 아니고 단순히 검출 능력의 측정수단으로서 $3s_b$를 도입하였던 것 같다. 따라서 그 당시 배경노이즈와 구별하기 위한 시그널의 변화를 구분하는 결정수단(decision criterion)으로 $3s_b$를 사용하였고 이 개념에 대하여 그 이후에 여러 학자들이 통계학적 의미를 부여 하였다(urrie,1995 Mocak, 1997, J. Trallero, 1999).

Keiser가 도입한 $3s_b$에 근거하여 후에 많은 통계적 설명을 다음과 같이 설명하였다.

$y_D = \mu_b + k_D \sigma_b$ (모집단의 경우 s_b 대신 σ_b를 사용함)

여기서

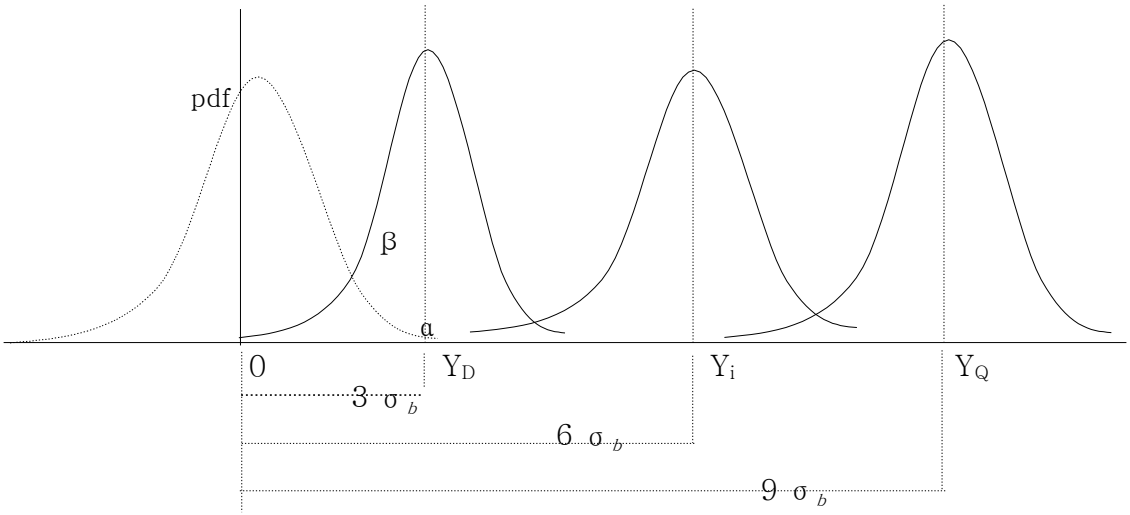
y_D: ACS에서 정의한 LOD의 시그널 값

μ_b: 공시료 시그널 값의 모집단 평균

σ_b: 공시료 시그널 값의 모집단의 표준편차

k_D: 3

(참고)기본적인 가정 : 공시료를 반복하여 실험하였을 때 그 값은 정규분포를 하고 농도는 (-)가 없으므로 단측검정을 함.



이 정의에 따르면 100(1-α)=99.87 %의 확률을 가지고 공시료의 시그널이 LOD($\mu_b + 3\sigma_b$)값을 넘지 않는다는 것을 의미한다(단측검정). 그러나 이런식으로 공시료의 시그널을 다루는 것은 α 오류(type I error)만을 취급하는 것이며 이때 100α=0.135%라는 것이다. 그러나 위의 정의에서는 β 오류(type II error)를 염두에 두지 않았는데 실제로 위 식에 의하면 100β=50 %로 매우 높다. 즉 LOD 수준에서 분석물질이 존재하여도 검출되지 않을 확률이 50 %된다는 것이다.

따라서 그 이후 몇 학자들에 의해 β오류도 작게 하여 100β=100 α=0.135 %가 되게하여 LOD를 $\mu_b + 6\sigma_b$로 하자고 하였으나 관용상 $\mu_b + 3\sigma_b$를 많이 사용하고 있다. 일부학자는 $y_i = \mu_b + 6\sigma_b$를 'the limit of guarantee of purity' 'identification limit'으로 부르자고 제안하기도 하였으나 잘 사용하지 않는다.

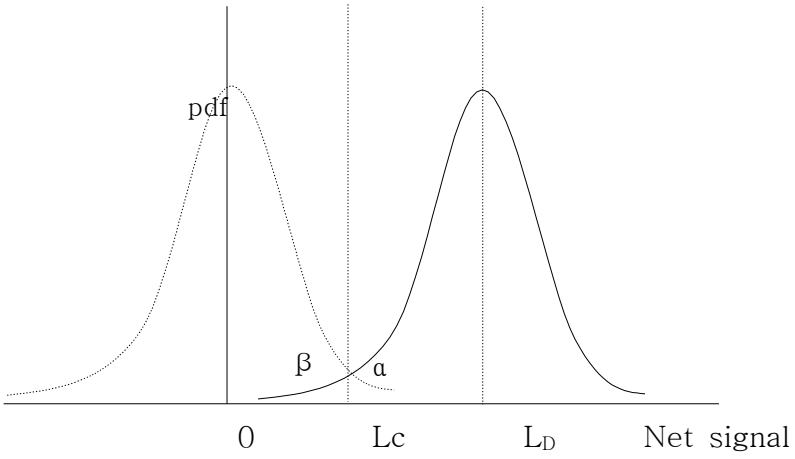
위에서 설명한 것처럼 LOD 관련 서적이나 논문에서 k_D = 3으로 하여 α값을 0.00135(0.135 %)로 아주 낮게 설명하고 있어 공시료 표준편차의 3배($3s_b$)라는 개념이 위식에서 도출된 것 같지만 실제로는 다음에 설명하는 IUPAC의 개념에서 그 근거를 찾는 것이 더 합당해 보인다.

(ii) 최근 IUPAC의 개념

IUPAC에서 도입한 Lc에 대해 다시 한번 언급해 보자. 공시료의 분

산(σ_b)을 LOD의 개념에 접목할 때 위에서 언급했듯이 두 가지 위험요인(α오류,β 오류)이 존재한다. α는 존재하지 않는 물질이 검출될 위험요인이다. β는 존재하는 물질을 검출하지 못하는 위험요인이라는 것은 위에서 이미 언급하였다. L_C(Critical Level)는 세 가지 요인에 의해 측정이 되는데, 공시료의 값(B), α, σ_b이다. L_C를 고정시키면, LOD는 오직 β에만 영향을 받는다. IUPAC에서 사용하는 α와 β는 일반적으로 5%라고 이미 언급하였다.

어느 물질이 '검출되었다' 또는 '검출되지 않았다'는 어느 추정값[2] $\hat{L}$을 일정한 분포를 가지고 있는 Lc와 비교하여 할 수 있는데, 만일 어느 물질이 존재하지 않을 때 추정값 $\hat{L}$(blank의 추정 값)이 Lc를 넘을 확률이 α보다 작을 때 검출이 되지 않았다고 할 수 있다. 이 때 Lc는 다음처럼 표시할 수 있다.



·$Pr(\hat{L} \geq Lc \mid L=0) \leq \alpha$ ----------①

(blank 시료를 분석하였을 때 이 분석 값(정확히는 추정값)이 Lc를 넘을 확률이 α보다 작음을 의미)

위 식에서 만일 $\hat{L}$가 정규분포하고 그 분산이 알려져 있다면 위 식은 다시

---

2)추정값이란 실험을 해서 얻은 값이라고 쉽게 생각해보자. 예를 들어 측정기관에서 정도관리를 할 때 각 기관의 제출하는 값은 참값에 대한 각 기관의 추정값이다.

다음처럼 표시할 수 있다.

·$Lc = Z_{1-\alpha}\sigma_b$ ----------②

여기서 $Z_{1-\alpha}$는 정규분포사에서의 (1-α)%의 값이며 σ_b는 귀무가설(참값 = 0) 추정치의 표준편차가 된다. 만일 정규분포상에서 α=0.05(95 % 신뢰수준)이면

·$Lc = 1.645\sigma_b$ ----------③

그러나 σ_b를 추정하기 위하여 s_b를 사용하고 자유도가 υ이면 정규분포대신 t분포를 사용하므로 $Z_{1-\alpha}$대신 Student's-t 분포로 대체하여야 하므로

·$Lc = t_{1-\alpha}s_b$ ----------④

가 된다. 만일 t 분포에서 자유도가 4이고 α=0.05이면

·$Lc=2.132s_b$ ----------⑤

이 경우 검출한계인 L_D는 '주어진 Lc(or α)에서 false negative error가 β인 값이라고 정의 할 수 있다. 이는 추정치 검출한계 L_D의 추정치 $\hat{L}$이 Lc를 넘지 않을 확률이 β인 참 시그널이나 농도를 의미한다.

·$Pr(\hat{L} \le Lc \mid L=L_D) = \beta$ ----------⑥

(L_D 수준에서의 분석 값(정확히는 추정값)이 Lc보다 작을 확률이 β보다 작음을 의미)

분산이 알려져 있고 정규분포하는 경우 위 식은 다음처럼 된다.

·$L_D = Lc + Z_{1-\beta}\sigma_D$ ----------⑦

만일 분산이 L=0과 $L=L_D$수준에서 일정하다면 위 식은 다시 다음처럼 쓸 수 있다.

·$L_D = (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})\sigma_b$ ----------⑧

α와 β수준이 동일하다면 이식은 다시 다음처럼 쓸 수 있다.

·$L_D = 2(Z_{1-\alpha})\sigma_b = 2Lc$ ----------⑨

α와 β를 0.05라고 하면 위 식은 다음 처럼 된다.

·$L_D = 3.29\sigma_b$ ----------⑩

여기서 3.29대신에 개략적인 값 3을 사용하면 다음처럼 된다.

·$\mathbf{L_D = 3\sigma_b}$ ----------⑪

그러나 위의 표시법은 분포의 정규성, 분산의 동일성(L=0수준에서 L=Lc수준에서)등을 비롯하여 많은 가정에 의존하고 있다

위 설명은 정규분포 모집단에서 설명한 것이지만 실제로는 표본 집

단에서는 표본 집단에서의 표준편차 기호인 s_b를 사용하여 $3s_b$라고 표시한다. 따라서 많은 학자나 단체에서 IUPAC에서 정의한 α오류와 β오류를 모두 5%라고 정의하고, 이로 l부터 도출된 $3s_b$를 LOD라고 사용하고 있다.

☞(참고)Lc를 구할 때처럼 σ_b를 추정하기 위하여 s_b를 사용하고 자유도가 υ이면 정규분포대신 t분포를 사용하면 $Z_{1-\alpha}$대신 Student's-t분포로 대체하여야 하므로 위 식은 아래와 같다. 그러나 실제로 많은 학자들은 정규분포를 가정하고 위처럼 $3s_b$를 사용한다.

$L_D = 2t_{1-\alpha,\ \upsilon}\sigma_b$ ----------⑫

만일 자유도가 4이고 α=0.05이면

$L_D=4.26s_b$ -- ----------⑬

④ LOD의 개념은 $3s_b$ 인데 왜 회귀직선을 이용하는가?

위 관계식 ⑪에서 보면 검출한계는 공시료의 표준편차에서 구할 수 있는 것처럼 보인다. 그런데 실제로 많은 책에서 회귀직선을 이용하여 LOD를 구하는 방법을 제시하고 있다. 이는 무엇을 의미하는가? 위의 개념은 공시료를 분석하였을 때 그 분석 신호(signal)나 농도에 대하여 적용하는 개념이 같음에도 불구하고 실제로는 분석시그널에 대한 것이었다. 그런데 실제로는 어느 시그널에 대한 농도를 구할 때는 일반적으로 회귀직선을 이용하여 시그널을 농도로 변환하게 된다. 이 과정에 회귀식이 관여하게 된다. 그러면 어떻게 해서 회귀식으로부터 검출한계를 구할 수 있는 것일까?

일반적인 회귀식은 다음처럼 쓸 수 있다.

·F(x) = y = B + S = B + Ax ----------⑭

여기서 B: Background signal

S: net signal(위에서 설명한 표준편차의 s와 구별하여 사용)

A: sensitivity

x: concentration of analyte

위 식에서

·S=Ax ----------⑮

가 되고 검출한계에 해당하는 물질의 농도를 X_D라고 하면

·$X_D = S_D/A$ ----------(16)

가 된다. 이때 S_D를 구하기 위하여 위 ①~⑩의 식을 적용하면 ⑨번식에서

$L_D = 2L_c$인 것처럼

·$S_D = 2S_c$ - ----------(17)

가 된다.(위에서 L은 농도(x)나 시그널(S)을 혼용하여 사용한 것이지만 실제로는 시그널로부터 농도로 변환하기 위해서는 회귀식을 사용하게 된다.)

α와 β를 0.05라고 하면 위 식은 ⑩처럼 되어 다음과 같이 된다.

·$S_D = 3.29\sigma_b$ ----------(18)

여기서 3.29대신에 개략적인 값 3을 사용하면 다음처럼 된다.

·$S_D = 3\sigma_b$ ----------(19)

따라서 농도로 표시되는 검출한계는

·$LOD(or\ X_D) = 3\sigma_b/A$ ----------(20)

이 된다. 많은 문헌에서는 3대신

·$LOD(or\ X_D) = k\sigma_b/A$ ----------(21)

로 표시하고 있고 k= 3을 지정하고 있는 것이다.

식 (11)과 식 (20)에서 보면 실제로 검출한계의 개념이 비슷함에도 불구하고 그 구하는 식은 달라 보인다. 왜 그런가 ? 이는 단적으로 설명하면 시그널을 농도로 환산하는 과정이 개입되기 때문이다. 그리고 위 식에 의하면 구하는 방법은 매우 쉬워 보인다. 그러함에도 실제로 많은 논문에서 제시하는 구하는 방법은 매우 다양하고 이에 대한 논란이 지속되고 있다. 그 이유는 무엇인가? 그 이유는 위 개념은 통계적인 개념을 도입하였다는 데 있다. 통계적인 개념을 도입하면서 가설검정과 유의성 테스트를 하기 위해선 몇가지 가정이 존재한다. 예를 들어

① 자료의 분포성 : 자료가 정규분포하는가 아니면 다른 분포를 하는가 ? 위에서 주로 설명한 개념은 정규분포를 가정하고, 그것도 모집단에서의 개념을 설명한 것인데 실제로는 우리는 무한개의 시료를 취할 수 없다. 이런 표본 집단의 자료를 어떻게 이용할 것인가에 대한 논란이 있다. 그런데 위 식에서 μ_b와 σ_b는 수없이 반복 측정했을때의 공시료 시그널과 관련이 있다. 그러나 실제로 분석 실험을 할 때는 수없이 수없이 공시료나 낮은 농도를 반복 측정하는 것이 불가능하므로 일정한 수만큼 분석하게 된다. 이때 공시료의 분석 횟수를 n_b라 하고 낮은 농도의 반복 분석횟수를 n_s라 하자. 이럴 경우 어떤 학자는 정규분포의 표본집단으로 정규 분포를 가정하기도하 하지만 많은 학자들이 t 분포의 개념을 도입하였는데 이는 실제로 우리가 공시료나 아주 낮은 농도의 시료를 무한개 만큼 분석하

지 못하므로 일정한 수만을 분석하게 되고 이때는 정규 분포보다는 t- 분포로 설명하는 것이 타당하다는 것이다. 이렇게 t-분포를 가정하므로서 접근이 가정하다. 이때는 자유도가 n-1인 검정 통계량 $t = \frac{X - \mu_B}{S/\sqrt{n}}$ 가 된다. 따라서 어느 분포를 따를것인가도 논란의 초점이 되며 이에 따라 통계량이 달라지게 된다.

② 분산의 동일성 : 위 설명은 해당 검출한계 또는 정량한계이하에서 각 값들의 분산은 동일하다는 가정을 하고 있는데 실제로 그렇지 않은 경우가 많다.

③ y절편의 이용 : 실제 공시료를 분석한 값을 사용할 것인가. 회귀식에서 나온 y의 절편을 사용할 것인가에 대한 논란

④ 회귀식의 오차 : 위 회귀식을 이용하는데 기본 가정은 회귀식이 전혀 오차를 갖고 있지 않다고 설명하였고 아주 단순해 단순해 보인다. 그런데 실제로 우리가 구하는 회귀식은 오차를 갖고 있다. 이런 회귀식의 오차를 보정하는 방법도 다양하다. 검량선에서 각 점 추정치는 항상 오차가 있다.

⑤ 시그널과 농도의 전환관계 : 일차방정식이 타당한가에 대한 논의 등 다양한 관점에 따라 실제로 구하는 방법은 매우 복잡하다.

⑤ 회귀식을 이용하여 LOD, LOQ를 구하는 방법

어떤 학자는 LOD를 시그널로 표시하는 것이 타당하다고 간주하기도 하였으나 실제로 시그널로 나온 기기의 반응(response)에 대하여 농도를 구하여 LOD를 구하는 것이 일반적이다(각각의 농도 전환 값을 X_D, X_Q라 하자). 이는 대개 회귀식에 의해 구한 검량선인 $F(x) = y = B + S = B + Ax$를 통해 구하는데 실제적으로는 일차 검량선 곡선인 $y = q_0 + q_1x$를 모델로 하여 구한다. 이 경우 X_D, X_Q는 y 절편인 q_0와 기울기(분석감도)인 q_1에 의해 영향을 받게 된다(참고 실제로 $Y = B + Ax$는 오차가 없을때의 식이고 $y = q_0 + q_1x$는 우리가 실제로 구한 회귀식임으로 오차가 개입된다. 따라서 회귀식 자체에 오차가 없을 때만 $y = B + Ax = q_0 + q_1x$ 가 가능하다. 이는 현실세계에서는 불가능하다.)

위에서 이론적인 설명을 하였거니와 실제로 우리가 실험결과로부터 얻은 회귀식을 이용하여 LOD와 LOQ를 구할 때도 다음과 같은 방법이 있

을 수 있다.

(6) LOD의 개념의 계산 과정

① IUPAC와 ACS의 정의에 따른 전통적 접근법(공시료의 분산을 이용한 방법)

이 방법은 분산을 계산할 때 검량선(회귀직선)의 절편에 상관없이 공시료의 평균 시그널인 $\overline{y}_b$를 이용하는 방법으로 다음 식에 의하여 구하게 된다.

$LOD = 3s_b/q_1$

$LOQ = 10s_b/q_1$

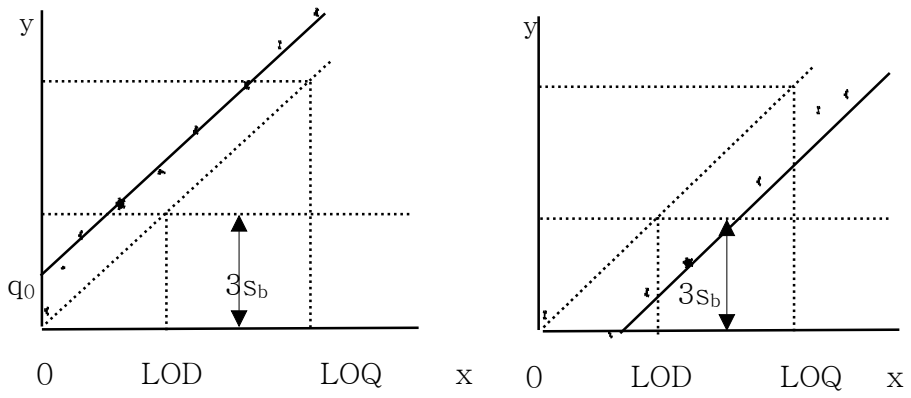
이 방법도 다시 두 가지로 구분할 수 있는데 하나는 0점을 기준으로 하는 방법이고 다른 하나는 영점 대신 회귀식에서 나온 y 절편인 q_0를 고려하여 계산하는 방법이다.

ⓐ y절편인 q_0대신 영점을 지나는 가상적인 회귀선을 이용하는 방법

이 방법은 검량선의 y절편인 q_0 을 사용하지 않고 공시료의 평균 시그널 $\overline{y}_b$와 표준편차 s_b를 사용하는 방법이다. 이렇게 하면 실제 검량선과 같은 기울기를 가지고(평행하게 됨) 영점을 지나는 가상선에 $3s_b$만큼 한 곳이 검출한계가 되고 10배만큼 한 곳이 정량한계가 된다.

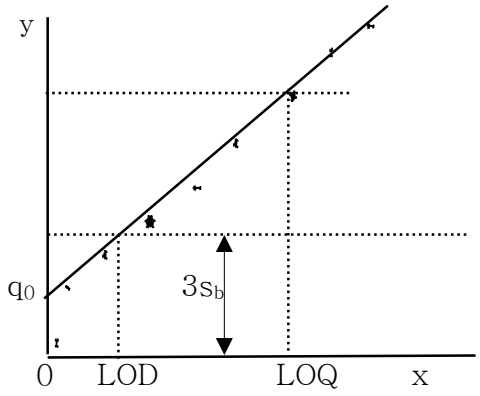
이 방법의 잘 맞을려면 다음 조건을 만족해야 한다. (i) $q_0 = \overline{y}_b$ 이고 (ii) 검량선위의 모든 점이 정확히 직선상에 위치(즉, 검량선을 작성하는 q_0 와 q_1 이 오차가 하나도 없어야 한다.)하여야 한다. (iii) 측정된 표본집단의 공시료 평균과 모집단의 공시료 평균은 같아야 한다($\overline{y}_b = \mu_b$) 그런데 이런 조건은 실제 실험에서 달성할 수 없다.

만일 검량선의 y절편인 $q_0 > \overline{y}_b$ 이면 LOD와 LOQ값은 과대평가(너무 크게 계산됨)되고 반대로 y절편인 $q_0 < \overline{y}_b$ 이면 LOD와 LOQ값은 과소평가된다.



ⓑ y절편인 q_0를 이용하는 방법

이 경우는 만일 검량선의 y절편인 $q_0 > \overline{y}_b$ 이면 LOD와 LOQ값은 과소평가되고 더구나 $q_0 > y_D(= \overline{y}_b + K_D s_b)$이면 LOD는 음의 수가 될 수도 있다. 반대로 y절편인 $q_0 < \overline{y}_b$ 이면 LOD와 LOQ값은 과대평가 된다.

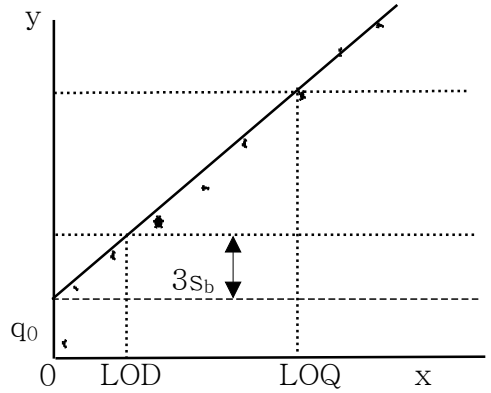


② 회귀식의 분산을 이용한 접근법

이는 y=f(c)인 검량선 함수를 이용하는 방법인데 일차 검량선인 경우 $y= q_0+ q_1c$를 이용하게 된다. 이 경우 공시료의 평균 시그널 $\overline{y}_b$대신 회귀식의 y 절편인 q_0사용하며, 공시료의 시그널에 대한 표준편차 s_b 대신 회귀선의 분산 통계량인 s_y를 사용하게 된다. 이때 LOD = $3s_{y/q_1}$가 된다.

이 방법의 장점으로는 ① LOD 농도가 (-)값이 되지 않는다는 것과 ② s_y 계산시 자유도가 일반적으로 s_b보다 크게 되어 모집단의 표준편차 σ_y를 잘 추정할 수 있게 된다.

그러나 이 방법은 분산이 각 회귀직선의 직선성 범위에서 동일하다는 가정에 근거를 두고 있는데 실제로는 그렇지 않다. 따라서 최근에는 검량선의 신뢰상한선을 이용하는 방법이 있는데 본 논고에서는 제외하기로 한다.



(7) 실제 LOD나 LOQ를 구하는 방법(몇 몇 기관이나 학자의 제안한 방법)

지금까지 살펴본 LOD의 개념(LOQ는 사실상 통계적인 개념이라기보다는 LOD의 3배수준이라는 약속임)은 간단하였으나 그 통계적인 의미와 각 기관의 정의는 복잡하였으며, 이를 계산하는 방법은 매우 다양하였다. 따라서 몇몇 기관이나 학자는 위의 기본적인 통계학적인 개념에다 자기 나름대로의 정의를 하여 사용하고 있다.

검출한계는 보통 2가지 방법으로 평가된다. 첫 번째는 시각에 의한 비기기적인 방법으로 signal/noise ratio(S/N)를 구하여 이용하는 방법이다. 이 방법에서 S/N 비가 보통 2또는 3의 값을 가지는 농도로 평가한다. 또는 공시료 신호의 3배에 해당하는 signal을 나타내는 농도로 평가하기도 한다. 두 번째는 위에서 설명한 표준편차를 이용한 계산에 의한 방법이다. 이 방법중 많이 사용하고 있는 식을 표 4에 정리하였다. 대부분의 방법은 signal

의 표준편차와 검량선을 기초로 하고 있다.

표 4. 계산식을 이용한 LOD를 구하는 방법

	수식	비고		참고문헌
①	3.3×(SD/S)	SD: 표준편차 S: 검량선 기울기	SD계산 ⓐ공시료의 표준편차 or, ⓑ회귀선의 residual 표준편차 or, ⓒ회귀선 y절편의 표준편차	FDA, 1997
②	K×(S_{bl}/m)	K: 3 S_{bl}: 공시료의 SD m: 검량선 기울기		분석화학, 1998
③	3×(S_y/m)	S_y: 회귀식 표준편차 m: 검량선 기울기	ⓐ계산된 LOD or, ⓑ가장 낮은 표준용액 or, ⓒX절편 중에서 높은 값으로 선택	NIOSH, 1991
④	3×σ_b	σ_b: 공시료의 SD		David 등, 1997
⑤	μ_b+ $K_D\sigma_b$	μ_b: 공시료의 평균 K_D: 3 σ_b: 공시료 SD		J Mocak 등, 1997
⑥	3.14×SD	SD:낮은 농도 SD	가장 낮은 농도 7번 분석하여 SD 계산, t(6, 0.99)=3.14	Standard method

Mocak 등(1997)은 검량선을 그릴 때, 농도가 0일때의 signal을 반드시 포함시켜야 하고, 각각의 농도는 여러 번 반복측정 하여 평균값을 사용하도록 하였다.

정량한계는 검출한계와 마찬가지로 signal/noise ratio와 계산에 의한 방법으로 구할 수 있다. 먼저, S/N ratio를 이용할 때는 보통 S/N=10:1을 나타내는 농도를 정량한계로 본다. 계산에 의한 방법은 적용식과 내용을 다음 표 5에 정리하였다.

표 5. 계산식을 이용한 LOQ를 구하는 방법

	수식	비고		참고문헌
①	10×(SD/S)	SD: 표준편차 S: 검량선 기울기	SD계산 ⓐ공시료의 표준편차 or, ⓑ회귀선의 residual 표준편차 or, ⓒ회귀선 y절편의 표준편차	FDA, 1997
②	(3 ~ 10)×LOD			WACS
③	$10\times\sigma_b$	σ_b: 공시료 SD		David 등 (1999)
④	3.33×LOD		ⓐ계산된 LOQ or, ⓑ재현성이 75%이상인 농도 중 에서 큰 값	NIOSH, 1991
⑤	5×LOD			Standard Method
⑥	$\mu_b + K_Q\sigma_b$	μ_b: 공시료의 평균 K_Q: 10 σ_b: 공시료 SD		J Mocak 등, 1997

① FDA(Food and Drug Administration) Center for Veterinary Medicine(1999.7)

미국 보건복지후생성(US Department of Health and Human Services)산하 FDA가 정의한 분석절차의 검증(Validation of Analytical Procedure: Methodlogy) 최종가이드(이행일자 1999.10)에 나와 있는 LOD와 LOQ의 개념이다.

ⓐ FDA의 LOD의 계산방법

(i) 시각적 평가방법(Based on Visual Evaluation)

비기기적 방법에 사용될 수 있으나 기기적인 방법에도 사용가능하다. 알고 있는 농도를 분석하여 분석물질이 신뢰성 있게 검출 될 수 있는 가장 작은 수준을 시각적으로 정한다.

(ii) 시그널 대 노이즈 (Singal to Noise) 방법

베이스라인 노이즈가 나타나는 방법에만 가능하다. 공시료와 낮은

농도의 분석물질을 분석하여 시그널을 비교함으로서 결정한다.
검출한계는 signal to noise ratio가 3(or 2) : 1로 한다.

(iii) 기기반응(response)과 기울기의 표준편차를 이용하는 방법

검출한계(DL)를 다음과 같이 정의하고

$$DL = \frac{3.3\sigma}{s}$$

여기서 σ = response의 표준편차

s = 검량선 기울기

검량선 기울기는 검량선 커브로부터 추정한다. σ의 추정치는 다음과 같이 몇 가지 방법으로 구할 수 있다.

· 공시료의 표준편차를 이용하는 방법: 적절한 수의 공시료를 분석하여 기기반응의 표준편차를 구한다.

· 검량선을 이용하는 방법 : DL 범위를 포함하는 농도에서 검량선을 구한다. 이때 회귀직선의 잔차 표준편차나 y절편의 표준편차를 이용한다.

(iv) 권장사항

검출한계(DL)와 DL를 결정한 방법이 기술되어야 한다.

ⓑ FDA의 LOQ 계산방법

LOQ의 개념도 위의 LOD와 같은 방법으로 기술되어 있고 단지, 시각적 평가방법에 있어서 '신뢰성 있게(reliably)' 라는 말 대신 '수용할만한 정확도와 정밀성을 가지고 정량할 수 있는(can be quantified with acceptable accuracy and precision)'이라고 되어있고, 시그널 대 노이즈를 이용하는 방법은 10:1을 사용하고 있다. 기울기의 표준편차를 이용하는 방법은 똑같고, 단지 3.3대신 10을 이용한다고 한 점이 다르다.

(i) 시각적 평가방법(Based on Visual Evaluation)

비기기적 방법에 사용될 수 있으나 기기적인 방법에도 사용가능하다. 알고 있는 농도를 분석하여 수용할만한 정확도와 정밀성을 가지고 분석물질을 정량할 수 있는 가장 작은 수준을 정한다.

(ii) 시그널 대 노이즈 (Signal to Noise) 방법

베이스라인 노이즈가 나타나는 방법에만 가능하다. 공시료와 낮은 농도의 분석물질을 분석하여 시그널을 비교함으로서 결정한다. 검출한계는

signal to noise ratio가 10 : 1로 한다.

(iii) 기기반응(response)과 기울기의 표준편차를 이용하는 방법

검출한계(DL)를 다음과 같이 정의하고

$$DL = \frac{10\sigma}{s}$$

여기서 σ = response의 표준편차

s = 검량선 기울기

검량선 기울기는 검량선 커브로부터 추정할 수 있고, σ의 추정치는 다음과 같은 몇 가지 방법으로 구할 수 있다.

· 공시료의 표준편차를 이용하는 방법: 적절한 수의 공시료를 분석하여 기기반응의 표준편차를 구한다.

· 검량선을 이용하는 방법 : 정량한계 범위를 포함하는 농도에서 검량선을 구한다. 이때 회귀직선의 잔차나 y절편의 표준편차를 이용한다.

(iv) 권장사항

정량한계(QL)과 QL을 결정한 방법이 기술되어야 한다.

② EPA(미국 환경보호청)의 방법

(EPA Region III의 Risk assessment에서 자료의 사용가이드(EPA's Guidance for Data Useability in Risk Assessment(DURA)에 제시한 검출한계(DL) 개념과 정량한계(QL)의 개념)

EPA에서는 자료 요약 테이블(data summary table) 이나 부록의 원자료철(raw data table)에 반드시 검출한계를 표기하여야 한다고 하고 있다. 이때 검출한계의 용어로 DL(detection limits)과 QL(quantitation limit)을 들고 있다. 각 정의에 대해서는 위 용어의 정의에서 설명하였거니와 이 개념을 다시 세분하여 설명하고 있다.

·IDL(the Instrument Detection Limit) : 실험실 표준용액 중 가장 낮은 농도를 7번 반복 분석하였을 때의 표준 편차의 3배

·MDL(the Method Detection Limit) : spiking한 시료를 환경시료처럼 동일하게 취급하여 7번 반복 분석하였을 때의 표준편차의 3배(sampling media에 알고있는 농도를 주입하여 현장시료와 동일하게 전 처리하여 7번 반복 분석하였을 때의 표준편차의 3배)

·SQL(the Sample Quantitation Limit) : 위 MDL값을 시료의 희석배수나 시료의 다른 특이한 점을 보정한 값

· CRDL(the Contract Required Detection Limit) : CLP 실험실에서 무기물질을 분석하는데 필요한 SQL
· CRQL(the Contract Required Quantitation Limit) : CLP 실험실에서 유기물질을 분석하는데 필요한 SQL
· LOQ(the Limit of Quantitation) : 분석대상물질을 일정한(대개 ±30 % 내외) 정밀성을 갖고 정량화할 수 있는 수준으로 대개 IDL을 결정하기 위한 표준편차의 10배로 가정한다.

전술했다시피 EPA Region III에서는 risk assessment를 할 때 모든 표에 검출한계를 표시하도록 하고 있는데 검출되지 않은 물질에 대해서는 SQL, CRDL/DRQL 또는 LOQ값(순서대로 선호됨)을 표기하고 옆에 'U'(Undetected)라는 코드를 사용하며, DL이상으로 검출은 되었으나 정량한계(QL)미만일때는 추정농도값을 표기하고 옆에 'J' 코드를 사용하도록 하고 있다.

EPA Region III에서 정의한 ND(Non-detect)는 7개의 반복 spiking한 시료를 분석하여, 시료희석, 시료보정등의 과정을 거친 정량한계(즉 SQL)이하를 말한다. EPA에서는 일반적으로 ND(Non-Detected)라 함은 다음과 같은 의미로 위해도 평가자에게 사용된다고 하고 있다.
ⓐ ND를 DL로 간주하는 방법; 이는 매우 보수적인 방법으로 모든 ND값을 DL값을 부여하는 방법이다. 이 방법은 항상 평균을 실제보다 크게 만들므로 바람직하지 못하다.
ⓑ ND를 0으로 간주하는 방법: 이는 검출되지 않은 물질에 대해 존재하지 않는다고 가정하는 방법이다. 이 방법은 위해도 평가자가 실제 그물질이 존재하지 않는다고 결정했을 때만 가능하다. 실제 의사결정은 다음 의사결정방법에 따른다.
ⓒ ND를 DL의 1/2로 간주하는 방법 : 이 방법은 DL과 0사이의 모든 값들은 평균적으로 DL의 1/2 수준이라고 보는 방법이다. 이 방법은 위해도 평가자가 실제 그물질이 존재한다고 결정했을 때만 가능하다. 실제 의사결정은 다음 의사결정방법에 따른다.
ⓓ DL 이하 농도의 수준에 대한 통계적 추정 : 이 방법은 위 ③방법보다 좋은 것으로 보이나 실제적으로 많은 노력과 전문적 지식이 필요하다. 또한 통계학적 추정방법은 검출되는 비율이 전체 시료의 50 % 이상일 때만 가능하다. 따라서 이 방법은 위해도 평가에 큰 영향을 주는 화합물과 자료가

적절할 때만 사용 가능하다.

EPA에서는 ND라고 표기된 자료에 대하여 위 4가지 방법 중 어떤 방법을 따를것인가는 다음 결정방법을 따르라고 하고 있다(Decision Path). 위 결정방법중 ⓐ의 방법은 항상 과대 평가하므로 사용하면 안된다. 따라서 ⓑ 방법(ND=0), ⓒ 방법(ND= DL/2), ⓓ 방법(통계기법 적용)중 노출을 최소의 편차로 추정할 수 있는 적절한 것을 선택하도록 하고 있다. 이때 선정기준은

(i) 검출되지 않은(ND) 물질이 DL 수준에서 심각한 건강위해를 주는지
(ii) 검출되지 않은(ND) 물질이 해당시료에 존재할 타당한 근거가 있는지
(iii) ND의 자료처리가 위해도 추정(risk estimate)에 영향을 크게 주는지
(vi) 자료들이 통계적 처리가 가능할 정도로 충분한지를 고려하여 다음과 같은 의사 결정경로를 밟는다

현장시료에서 물질이 유해할 정도의 농도수준으로 존재하는가?	아니오 →	ND를 0이라고 간주
↓예		
화학물질의 농도가 더 높으리라고 예상하는 지점에서 채취한 것의 농도가 검출농도수준(이상)인가?	아니오 →	ND를 0이라고 간주
↓예		
화학물질의 물리화학적 특성(수용성, 물-옥탄올 분배계수, 증기압, 헨리 상수, 생분해도 등)을 고려하여 볼 때 시료 중 충분히 존재할 가능성이 있는가? 비슷한 특성을 가진 다른 화합물이 시료중에 존재하는가?	아니오(두 가지 질문 모두) →	ND를 0이라고 간주
↓예		
ND를 DL/2라고 하는 경우 정량적 위해도 평가에 큰 영향을 주는가?	아니오 →	ND를 DL/2이라고 간주
↓예		
통계적 기법을 적용하는 것을 고려함		

③ 분석화학(이후성, 1988)

분석화학에서는 감도와 검출한계를 같이 연계시켜 다음과 같이 설명하고 있다.

ⓐ 감도(Sensitivity)와 검출한계(Detection Limit)

(i) 감도

일반적으로 어떤 분석 방법이나 기계의 감도란 분석 성분의 농도의 작은 차이를 감지해 낼 수 있는 능력을 의미한다. 두 가지 요인이 감도의 한계를 결정해 준다. 그 하나는 검량선의 기울기이고, 다른 하나는 측정 장치의 재현성 즉 정밀도이다. 어떤 두 가지의 방법이 같은 정밀도를 갖는다면, 그 중에서 검량선의 기울기가 급한 쪽이 높은 감도를 가진다. 마찬가지로 논법으로 두 가지 방법이 같은 기울기의 검량선을 가질 때에는 정밀도가 높은 쪽이 높은 감도를 가진다.

감도에 대한 가장 간단하고도 정량적인 정의는 검량감도(Calibration sensitivity), m이다. 이것은 국제 순수 및 응용화학연합회(IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry)에 의해 용인된 것으로서 m은 관심있는 농도에서 검량선이 가지는 기울기이다. 검량선이 직선인 경우에는 검량감도는 농도 C에 무관하고, 다음의 식으로 표현된다.

$Y=mC+Y_{bl}$ ----------(1)

여기서 Y와 Y_{bl}은 분석 성분과 공시료에 대한 기기의 신호이다. 검량감도의 단점은 감도를 결정해 주는 두 가지 인자의 하나인 정밀도를 고려하지 못한다는 사실이다.

이러한 약점을 보완한 것이 분석 감도(Analytical sensitivity) γ이다.

$\gamma=m/S_s$ ---------- (2)

여기서 S_s는 신호의 표준편차이다. 분석감도는 분석기기의 증폭률에 대하여 비교적 둔감하다는 장점을 가지고 있다. 예를 들면 분석 기기의 이득률을 5배 증가시킬 경우 m도 5배 커진다. 그러나 대개의 경우 잡음의 크기도 같은 배수만큼 증가하므로 S_s도 같은 배수만큼 커진다. 따라서 γ에는 별 변화가 없다는 것을 알 수 있다. 분석 감도의 또 한가지 장점은 Y의 측정단위에 무관하다는 것이다. 그러나 S_s가 농도에 따라 변화는 경우가 있으므로 γ도 농도에 의존할 수도 있다는 단점이 있다.

(ii) 검출한계

검출한계에 대한 정의로서 가장 일반적으로 용인된 것은 '주어진 신뢰수준에서 검출될 수 있는 분석 성분의 최저 농도 또는 무게'이다. 검출한계는 분석 성분의 분석 신호와 공시료에 의한 신호의 통계적 요동사이의 비이다. 그러므로 검출한계에 가까이 갈수록, 분석신호와 그의 표준편차가 공시료에 의한 신호 Y_{bl}과 그의 표준편차 S_{bl}에 접근한다. 그러므로 최소한의 식별 가능한 분석신호 Y_m은 공시료에 의한 신호와 그 표준편차의 K배로 잡는다.

$Y_m = Y_{bl} + KS_{bl}$ ---------- (3)

실험적으로 Y_m은 20또는 30개의 공시료를 장시간에 걸쳐 측정함으로서 결정할 수 있다. 이 측정으로부터 Y_{bl}과 S_{bl}이 얻어진다. 식 (1)의 Y에 식 (3)의 Y_m을 대입하면, 얻어지는 C값이 검출한계 C_m이다.

$C_m=(Y_m-Y_{bl})/m=K\cdot S_{bl}/m$ ---------- (4)

여기서 문제는 K값을 정하는 것이다. K값을 정하는 데는 학자들에 따라 의견이 다르긴 하지만, Kaiser가 제안한 K=3을 사용하는 것이 가장 타당하다고 믿어지고 있다.

④ NIOSH(1995)

(i)개요

1984년에 처음 발의되어 1994년에 개정된 미국국립산업안전 보건연구소(NIOSH)의 산업위생시료채취 및 화학분석에 관한 SOP(Standard Operating Procedures for Industrial Hygiene Sampling and Chemical Analysis)에서는 검출한계(LOD)는 시료중 분석대상물질의 신호를 보고할 것인지 결정하는 결정점으로 사용하고, LOQ는 정밀도를 가지고 정량할 수 있는 가장 작은 양을 표시할 때 사용하는 것이라고 하고 있다.

그러나 이러한 요인들은 분석 범위의 가장 낮은 농도와 관계가 있는 것이지 높은 농도에서의 정확성, 정밀성 또는 민감도에 대한 정보를 제공하지는 않는다라고 하고 있다.

주의: 이 SOP는 ICP-AES에 의한 원소 분석과 현미경에 의한 섬유계수를 제외한 반복적인 화학 분석에 적용된다.

(ii) 정의

ⓐ Limit of Detection(LOD) : 평균 공시료 신호 이상인 평균신호, $3\sigma_b$을 제공하는 분석대상물질의 양. 여기에서 σ_b는 공시료 신호의 표준편차이다.
ⓑ Limit of Quantitation(LOQ) : 적합한 정밀성을 가진 가장 최소의 양이다. LOQ는

⒜ 평균 공시료 신호+ $10\sigma_b$(예를 들면, ±30% 불확실도) 또는
⒝ 재현성이 ≥75% 이상인 양

중 큰 값을 택한다.

(iii) 분석

σ_b를 추정방법 : 시료와 비슷한 매질을 갖는 낮은 농도의 분석물질 반응의 분산을 이용한다.
☞(주의): 이 추정방법은 분석물질 신호의 표준편차 σ가 검량선 범위에 있어서 일정하다는 것과 검량선이 직선성이라는 것을 가정한다.
A. 각각의 시료세트에 대해
ⓐ 검량선 표준용액 준비 : 예상 LOD보다 더 낮은 범위를 포함하고 최고 농도는 예상 LOD의 10배를 넘지 않는 농도의 검량선 표준용액을 시료 매질에 spike 시켜서 N개(5개 이상) 준비.
☞(주의): 표준용액 수가 많을수록, LOD의 추정이 잘됨. N 개 표준 용액의 농도 분포는 예상 LOD보다 약간 아래인 것의 갯수가 (N-1)/2개이고, 표준용액 하나는 5×LOD 부근이고, (N-1)/2개는 10×LOD 부근에 있어야 기울기 추정이 좋다.
☞(주의): 만일 표준용액을 시료 매질에 spike하지 않고 분석한 LOD와 LOQ는 회수율과 회귀식의 표준오차($S_y=\sqrt{\frac{\sum (\ _i - y_i)^2}{N-2}}$)로 보정되지 않으면 기기적(instrumental)이라고 표기한다.
ⓑ 현장시료의 분석조건과 동일한 분석조건에서 N개의 낮은 농도의 표준용액을 분석한다.
☞(주의): 만일 표준용액을 여러번 반복해서 분석하였다면, 각 표준용액의 평균 분석값을 이용하여 LOD 계산시 N개의 값을 이용하도록 한다.(각 농도수준에서 여러 번 분석하였다면 그 평균값을 사용하라는 의미)
ⓒ N개의 낮은 농도의 검량선의 반응 vs 분석물질의 양을 그래프로 그린다. 직선회귀식, Y=mX+ b과 각 분석물질의 양, X에 예상되는 반응(Y_i)을 얻는다.

☞(주의): 만일 직선성이 아니라면, 비직선 회귀식을 사용하라.

ⓓ 회귀식의 표준오차를 계산하라.

$S_y = \sqrt{\frac{\sum (\quad_i - y_i)^2}{N-2}}$, 여기에서 N은 (2)에서 설명한 데이터의 수이다.

ⓔ LOD를 계산한다. $LOD=3S_y/slope=3S_y/m$

그런다음 실제 LOD는

(a) 계산된 LOD, $LOD=3S_y/slope=3S_y/m$

(b) 가장 낮은 농도의 표준용액 또는

(c) X절편(만일 회귀식이 음의 y절편을 갖는다면) 중에서 가장 높은 값으로 한다.

ⓕ 정량한계는

㉠ LOQ=3.33×LOD 또는

㉡ 회수율이 75%이상 되는 질량중에서 더 큰값으로 선택한다.

B. 계산된 LOD는 다른 유용한 값(visual inspection of the calibration grape, strip chart recording of the peaks, background present in the field samples, mass spectrometric data 등)과 비교하여 그것이 신뢰할 만한 값이라는 것을 확인한다.

(iv) 기록과 해석

ⓐ LOD이하인 결과는 '검출안됨(ND)'로 기록한다.

ⓑ LOD와 LOQ 사이의 결과는 유효숫자 2자리만 기록하되 괄호로 묶어 결과의 비정밀성을 표시하여 준다.

ⓒ 계산된 LOD(한자리 유효숫자로)와 LOQ(두자리 유효숫자로)는 보고서에 첨가한다.

ⓓ 해석

㉠ false positive.

방해물질이 없는 경우 99%의 신뢰수준에서 LOD와 동일하거나 또는 더 높은 값을 갖는 시료가 분석물질에 포함되어 있다. 즉 false positive의 가능성은 1%이다.

㉡ false negative

LOD 수준에서 false negative일 가능성은 50%(LOD 수준의 분석물질을 포함하는 시료의 반이 검출할만한 시그널을 보이지 않음)이다. 좀더

말하면 분석물질이 실제로 존재하는데 그 수준이 LOD보다 훨씬 낮은 수준일때(<<LOD) 검출할 확률은 1%이고, LOD 수준에서는 50%까지 될 수 있고, 2×LOD수준에서는 99%까지 될 수 있다는 의미이다. 만일 50%보다 더 낮은 false negative에서 실험해야 할 데이터가 필요하다면, '2×LOD 또는 그 이상의 농도에서, 시료의 99%는 검출하고 기록해야 한다고 말할 수 있다.

⑤ 논문소개(J. Vial & A. Jardy(1999) 가 소개하고 있는 방법)

이 저자들은 HPLC를 사용하여 LOD와 LOQ를 계산하는데 있어 여러 가지 방법을 시도해보고 있다. LOD와 LOQ의 정의는 IUPAC의 정의를 따르고 있고 이 정의에 따라 소개하고있는 방법은 다음과 같다.

(i) 시그널대 노이즈를 이용하는 방법

이는 HPLC에서(GC에서도 가능) 가장 많이 사용되고 있는 방법으로 시그널과 노이즈를 크로마토그램상에서 직접 재어 계산하는 방법이다. 아주 낮은 농도를 분석하여 background noise와 시그널비를 계산한다.

(ii) 회귀직선을 이용하는 방법

표준용액의 농도를 LOD와 LOQ 수준정도에서 만들어 분석하여 농도와 시그널간의 회귀직선을 구하고 표준편차를 이용하는 방법이다. 이때 이용하는 표준편차는 두가지 방법에 의하여 구할 수 있다.

(a) 회귀직선의 잔차의 표준편차를 이용하는 방법(Regression residual standard deviation) : $\sigma_{y/x}$

(b) y절편의 표준편차[3]를 이용하는 방법(Standard deviation of the intercept) : σ_{yb}

그런 다음 LOD는 선정한 표준편차의 3배를, LOQ는 선정한 표준편차의 10배를 하면 된다.

---

3) 어떤 책에서는 표준오차라는 용어를 사용하기도 하는데 표준오차란 표본집단에서의 표준편차를 말하는 것으로 모집단의 표준편차를 자유도의 제곱근으로 나눈 것을 의미한다.

(8) 실제 계산 예

(가) 크로마토그램의 Signal/Noise ratio를 이용하여 구하는 방법을 적용하였을 때의 예

PAH 표준용액 0.05 ㎍/ml의 GC/MSD 결과크로마토그램에서 Benzo(g,h,i)perylene의 검출한계를 구한예 (split ratio 20:1):

(i) 저농도를 주입하고 그 시그널과 노이즈를 이용한 방법

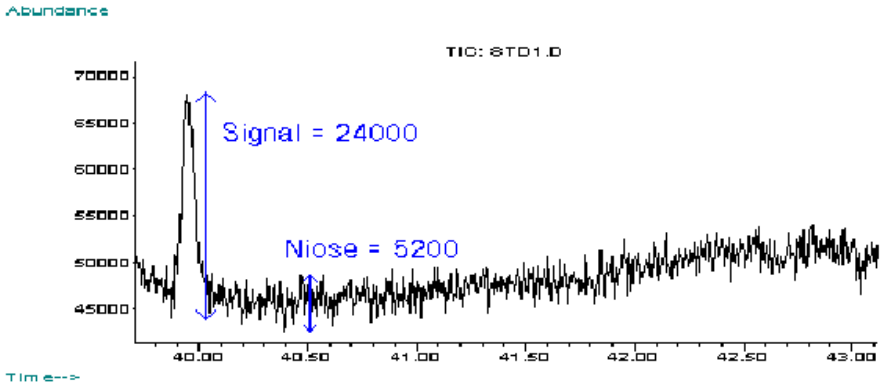
ⓐ LOD(MDL) = (주입량 × k)/(signal/noise)

여기에서 factor는 3(LOD) 또는 10(LOQ)를 적용

ⓑ LOD(MDL) = (100pg×3)/(24000/5200) = 65.00 pg

여기서 0.05 ㎍을 주입했지만 split ratio를 20:1로 했기 때문에 주입량은 100 pg이 된다.

ⓒ 따라서 LOD(MDL) = 65 pg/ml



(ii) 공시료를 주입하여 노이즈를 구하고 검량선에 노이즈 시그널의 3배를 대입하여 구하는 방법 : 위에서 구한 Noise 시그널 5200의 3배(15600)를 검량선에 대입하여 그 때의 농도를 구하면 된다.

(나) 회귀식을 이용한 LOD 구하기의 예

다음은 GC/FID를 이용한 1,2 Dichroloethane의 분석결과이다.

STD	DCE Conc. (mg/ml)	Area
STD0	0.0000	3.6752
STD1	0.0415	12.1035
STD2	0.0830	19.7184
STD3	0.1245	28.0471
STD4	0.2075	44.6527
STD5	0.2905	58.6916
STD6	0.4150	80.9442
STD7	1.2459	241.8618
STD8	2.0765	385.9533
STD9	2.9071	546.4466
회귀식	**y=185.8974x+ 4.8034**	
다중상관계수	**0.9999**	

이 결과를 Excel 프로그램을 이용하여 회귀식을 구하면 다음과 같은 결과가 나온다.

요약 출력

회귀분석 통계량		
다중 상관계수	0.999907	
결정계수	0.999813	
조정된 결정계수	0.99979	
표준 오차	**2.72104**	**←이값이 잔차의 표준편차가 됨 (Residual Standard deviation)**
관측수	10	

분산
분석

	자유도	제곱합	제곱 평균	F 비	유의한 F
회귀	1	317092.4(SSR)	317092.43(MSR)	42826.85367	3.33E-16
잔차	8	59.23245(SSE)	7.4040561	(MSE)	
계	9	317151.7(SST)			

	계수	**표준 오차**	t 통계량	P-값
Y 절편	4.803414	**1.086858**	4.4195412	0.002227856
X 1	185.8974	0.898287	206.9465	3.32707E-16

잔차 출력

관측수	Y 예측치	잔차	표준 잔차
1	4.803414	-1.12817	-0.439762
2	12.51815	-0.41462	-0.16162
3	20.23289	-0.51446	-0.200538
4	27.94763	0.099426	0.0387562
5	43.37711	1.275605	0.4972305
6	58.80659	-0.11498	-0.044821
7	81.95082	-1.00665	-0.39239
8	236.4129	5.448903	2.1239802
9	390.8193	-4.86602	-1.896773
10	545.2256	1.220978	0.4759366

위 결과로부터 회귀직선에 의한 LOD를 구하기 위해 필요한 인자를 요약하면 다음 표와 같다.

Parameter	기호	추정치	
관찰수	N	10	
기울기		185.8974	
상관계수	R	0.999907	$R=\sqrt{\frac{SSR}{SST}}$
잔차의 표준오차	$\sigma_{y/x}$	2.72104	$S_y=\sqrt{\frac{\sum (\ _i - y_i)^2}{N-2}}$
y 절편		4.803414	
y절편의 표준편차	σ_{yb}	1.086858	
F-test (유의성)		42826.85367 (3.33E-16)	

몇가지 계산방법

(i) NIOSH : LOD의 계산방법은 다음과 같으므로

LOD = $3S_y/slope=3S_y/m$

LOD = 3 x 2.72104/185.8974 = 0.044 ug/ml

LOQ = 3.3×LOD = 0.1452 ug/ml

(ii) **J. Vial & A. Jardy(1999) 방법**

	criteria		농도(ug/ml)	비고
LOD	area = $3\sigma_{yb}$	3 x 1.086858 = 3.26	(-0.0083)	y절편 표준편차 이용
"	area = $3\sigma_{y/x}$	3 x 2.72104 = 8.16	0.01805	잔차 표준편차 이용
LOQ	area = $10\sigma_{yb}$	10 x 1.086858 = 10.87	0.03263	y절편 표준편차 이용
"	area = $10\sigma_{y/x}$	10 x 2.72104 = 27.21	0.1205	잔차 표준편차 이용

(다) 분석화학(이후성, 1988)에 나타난 방법

회귀식 : y=1.12x+0.0312

실험결과(농도를 반복하여 분석)

농도(ppm)	측정횟수	I I	Ss
10.0	10	11.62	0.15
1.0	10	1.14	0.025
0.00	24	0.0296	0.0082

$Y_m = Y_{bl} + KS_{bl}$

LOD=$(Y_m - Y_{bl})/m = K \cdot S_{bl}/m$공식을 이용

$Y_m = 0.0296 + 3x0.0082 = 0.054$

LOD = (0.054-0.0296)/1.12 = 0.022 ppm or

LOD = (3x0.0082)/1.12 = 0.022 ppm

(9) ND이하의 자료를 어떻게 처리할 것인가?

위에서 언급한 사실은 모두 검출한계의 개념과 정의 그리고 검출한계를 어떻게 구할 것인가에 대한 논의였다. 그렇다면 검출한계 이하의 자료를 어떻게 처리할 것인가하는 것도 문제가 된다. 과거의 측정자료와는 달리 최근의 측정자료는 작업환경의 개선 등으로 그 수치가 많이 떨어지고 있고, 이에 따라 검출한계미만의 자료도 많이 있다. 소위 기술통계량(평균, 표준편차 등)을 구할 때 이들 자료를 어떻게 보아야 하는가 ?

(i) EPA의 방법 : 이미 EPA의 LOD 계산방법에서 EPA의 ND이하 자료를 처리할 때 decision path를 소개하였거니와 이에 대한 다른 논의를 소개하고자 한다.

(ii) Hornung R.W. 논문(1990) : 작업환경측정자료가 대수정규분포한다고 하고 적용방법에 대해 논의하고 있음

ⓐ가장 간단한 방법 :

·ND 이하를 무시하는 방법은 평균을 과대 평가하게 한다.

·0으로 계산하는 방법은 평균계산시 과소 평가하게 된다.

이 두방법은 부정확하므로 적절하지 못하다.

따라서 최근에 통계학적 기법을 적용하고자 하는 노력으로 인해

ⓑ Maximum likelihood Method(Hald에 의해 처음 제기)

ⓒ Simple approximation Method(Nehls와 Akland에 의해 제기)

ⓓ New approximation Method(논문 저자가 제기)이 있다.

Maximum likelihood Method 방법은 자료의 분포를 잘알고 있을 때 적합하며 대수정규분포일때는 다음 그림과 같은 censored lognormal distribution(censored 란 말을 표본집단의 일정부분이 어느 측정한 값이하로 존재

할 때 쓰임)을 보인다.

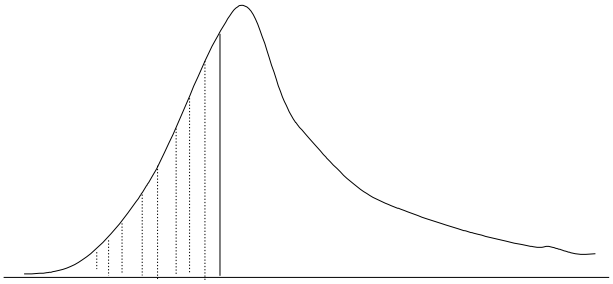


Fig1. Lognormal distribution censored at the LOD

이 경우 계산하는 방법이 매우 복잡하고, 자료의 50 % 이상이 LOD이하일 때 사용불가하다. 50 % 이상의 자료가 LOD이하일 경우에 Cohen이 Maximum likelihood Method를 사용하도록 제시하고 있다. 이 두 방법은 평균과 표준편차를 추정할 때 편차를 갖지 않는 좋은 방법이나 계산이 다소 복잡하므로 여기서는 생략한다(필요한 사람은 통계전문서적이나 참고문헌 참조)

Simple approximation Method는 ND의 값을 LOD의 절반(1/2LOD)로 간주하여 계산하는 방법으로 가장 널리 사용된다. 즉 ND라고 표기된 모든 값에 1/2LOD값을 부여하고 모든 자료를 Log전환하여 기하평균과 기하표준편차를 계산하면 된다. 그런데 이방법의 가정은 LOD 이하수준에서는 다음 그림처럼 일정한 분포를 갖고 있다는 것이다. 그런데 실제로 작업환경 측정결과가 아래처럼 분포한다고 보기는 힘들다.

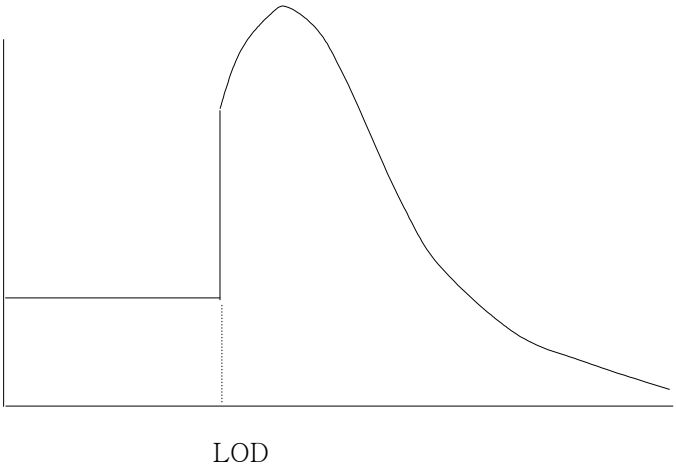


Fig2 . Assumed distribution for valid use of the 1/2LOD approximation

New approximation Method는 위의 간단한 방법의 단점을 보충하기 위하여 LOD이하의 값을 추정할 때 LOD 이하의 분포를 그림 2의 사각형 부분보다는 그림 3처럼 삼각형 방법을 사용하자는 것인데 이는 대수정규분포에서 기하평균이 최빈수(그림에서 피크의 꼭지점)보다 작을 때 잘 맞는다.

이 경우 $\int_0^{l} bxdx = 1/2 \int_0^{LOD} bxdx$

여기서 l : 0과 LOD사이에 있는 값으로 ND의 가장 좋은 추정치

b: 대각선의 기울기

L: LOD대신 간단한 약자인 L을 사용, 즉 LOD

위 식을 적분하면

$$\frac{l^2 b}{2} = 1/2 \frac{L^2 b}{2}, \quad \text{-----> } l^2 = \frac{L^2}{2} \quad \text{-------> } \quad l = \frac{L}{\sqrt{2}}$$

따라서 아래 그림 3처럼 분포하는 자료는 1/2LOD보다는 $1/\sqrt{2}$ LOD로 잘 추정할 수 있다.

위 논문에서의 결론은 다음과 같다. 아주 정확한 자료를 원하면 Hald가 제기한 Maxium likelihood method를 사용하는데 이는 계산이 복잡하다. 따라서 대부분의 대수정규분포하는 경우는 ND의 값을 $1/\sqrt{2}$ LOD로 추정한다. 단 자료가 0점으로 매우 치우쳐 있고 기하표준편차가 3이상이면 ND의 값을 1/2로 하는 것이 잘 맞는다. 그러나 ND의 갯수가 전체 측정치의 50 %이상이면 위 방법을 사용하는 것은 무리가 있다. 이런 경우 Cohen이 제안한 maximum likelihood hood를 사용하던지, 아니면 ND이하의 값이 전체값에서 몇 %가되는지 표기하고 LOD이상의 값을 범위로 표시한다. 불가피하게 평균을 기입하여야 할 필요가 있으면 1/2LOD방법을 사용하나 이 때의 표준편차는 구하지 않는 것이 좋다.

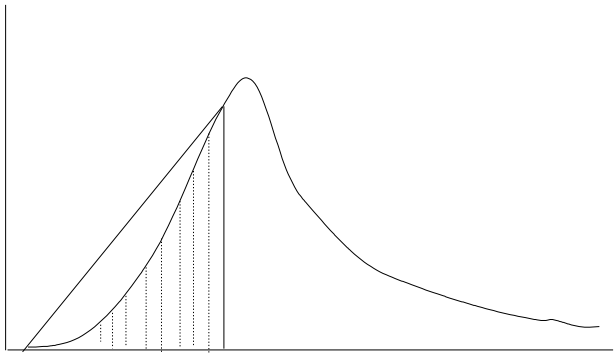


Fig 3. $1/\sqrt{2}$ LOD를 사용하는 방법(삼각형 이용)

(iii) Peking J.L., et al 논문(1990)
이 논문에서는 대수정규분포하는 자료가 LOD이하인 값을 많이 갖고 있을 때 실제적인 예를 들어(석면측정자료) 95 % 상한신뢰한계(95 % UCL)를 구하는 방법을 제시하고 있으나 다소 복잡하다.

IV. 결론

검출한계와 정량한계에 대한 여러 기관이나 학자가 갖고 있는 개념은 비슷하였지만 그 구체적인 정의는 다양하였고 계산방법도 다양하다.

LOD에 대한 정의로는 IUPAC에서는 "어느 주어진 분석 절차에 따라 합리적인 확실성을 가지고 검출할 수 있는 가장 적은 농도나 양*(A concentration or quantity, that is derived from the smallest measure that can be detected with reasonable certainty for a given analytical procedure)"* 으로 정의하고 있고 ACS(American Chemical Society)에서는 "어느 정해진 분석절차로 신뢰성 있게 분석할 수 있는 분석물질의 가장 낮은 농도*(The lowest concentration of an analyte that the analytical process can reliably detect)"라고 정의하고 있다.*

LOQ는 LOD가 정량분석에서 만족스런 개념을 제공하지 못하기 때문에 LOD 개념을 보충하기 위해 도입되었다. 결과적으로 LOQ는 통계적인 개념보다는 일종의 약속이고 이는 LOD의 3배 또는 3.3배로 정의된다.

IUPAC에서는 α오류와 β오류를 각각 0.05로 하여 이때의 LOD는

공시료 시그널의 표준편차의 3배($L_D = 3\sigma_b$)라는 개념을 도입하고 있다. 이를 농도로 전환하는 과정에서 회귀식이 도입되게 되며 이때 LOD(or X_D)= $3\sigma_b/A$(A: 기울기)가 유도된다.

LOD를 계산하는 방법은 시그널 대 노이즈를 이용하는 방법, 회귀직선을 이용하는 방법이 있고 회귀직선을 이용하는 방법도 공시료의 표준편차를 사용하는 방법과 y절편의 표준편차를 이용하는 방법, 회귀직선의 표준편차(잔차의 표준편차)를 이용하는 방법이 있다.

따라서 실제로 측정기관에서 검출한계를 표시할 때는 구체적인 정의와 계산방법을 같이 표시하는 것이 필요하다.

검출한계미만의 값을 포함한 자료의 평균을 구할 때는 여러 방법이 제시되고 있으나 분포가 대수정규분포하는 경우는 ND의 값을 $1/\sqrt{2}$ LOD로 추정한다. 단 자료가 0점으로 매우 치우쳐 있고 기하표준편차가 3이상이면 ND의 값을 1/2로 하는 것이 좋다. 정확히 구할 때는 다른 통계방법(maximum likelihood method)를 적용한다.

지금까지 설명한 LOD, LOQ를 요약정리하면 다음과 같다.

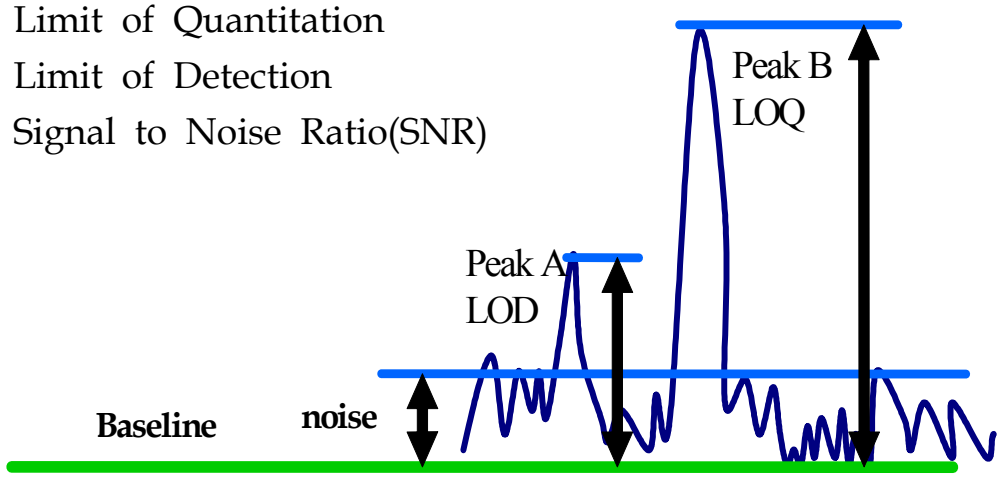
LOD와 LOQ를 구하는 방법

1. **Based in Visual Evaluations**
   - **Used for non-instrumental methods**
2. **Based on Signal-to Noise-Ratio**
   - **3:1 for Detection Limit**
   - **10:1 for Quantitation Limit**
3. **Based on Standard Deviation of the Response and the Slope**

Limit of Quantitation

Limit of Detection

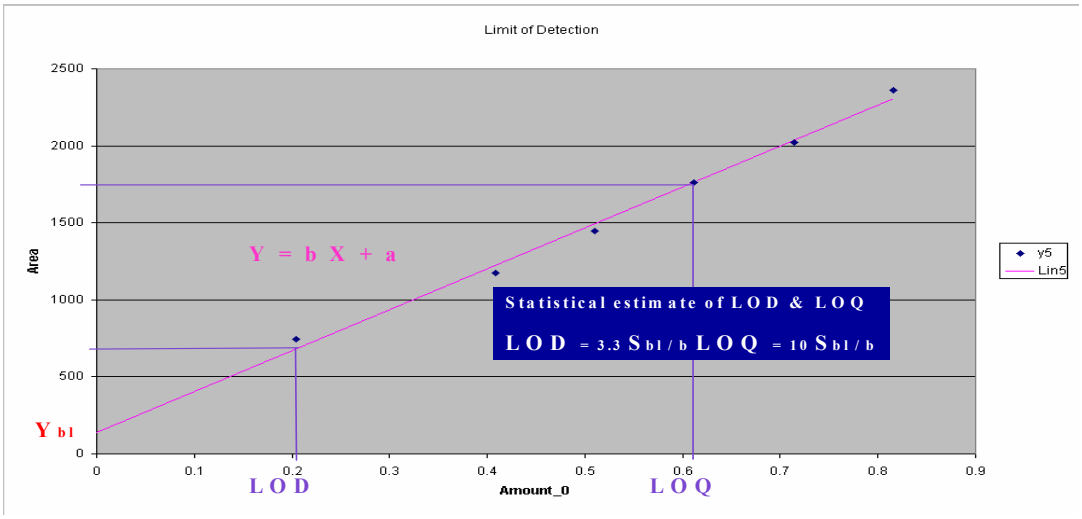
Signal to Noise Ratio(SNR)



$$LOD = \frac{3.3SD}{S}, \qquad LOQ = \frac{10SD}{S}$$

- sd: Standard Deviation of blank reading or Standard Deviation of Regression Line
- S: Slope of Calibration Curve

$$Analytical\ Sensitivity = \frac{Slope\ of\ Calibration\ Curve}{Standard\ Deviation\ of\ the\ Measurement}$$



○ 검출한계미만의 값 처리방법

·대수정규분포하는 경우는 ND의 값을 $1/\sqrt{2}$ LOD로 추정.

·자료가 0점으로 치우치고 GSD가 3이상이면 ND의 값을 1/2LOD로 함

·ND의 갯수가 전체의 50 %이상이면

(i) Cohen의 제안한 maximum likelihood hood를 사용, 아니면

(ii) ND이하의 값이 전체의 몇 %인지 표기
LOD이상의 값을 범위로 표시

(iii) 불가피하게 평균을 기입하여야 할 필요가 있으면 1/2LOD 방법 사용, 표준편차는 구하지 말 것

○ 실제로 기관에서 검출한계를 표시할 때는 구체적인 정의와 계산방법을 같이 표시하는 것이 필요

참고문헌

윤충식, 백남원, 김정한, 박동욱, 최상준, 김신범, 채현병: 초음파 전처리에 의한 용접 흄중 6가 크롬의 분석. 분석과학, 12(5):447-459, 1999.

이후성 : 제 2장 오차론, 분석화학(채명준, 이후성, 김하석 편저), 도서출판 동화기술, 서울, 1988, pp79-83

Boque R., M.S. Larrechi, F.X. Rius : Multivariate detection limits with fixed probabilities of error, Chemometrics and intelligent laboratory systems, 45:397-408, 1999

Coleman D., J. Auses, N. Grams : Regulation-From an industry perspective or Relationships between detection limits, quantitation limits, and significant digits, Chemometrics and intelligent laboratory systems, 37:71-80, 1997

Currie L.A.: Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995), Pure & Appl. Chem., 67(10), 1699-1723, 1995

EPA : http://www.epa.gov/gea3hwmd/risk/guide3.htm

Hornung, R.W., L.D. Reed : Estimation of Average Concentration

in the Presence of Nondetectable Values. Appl. Occup. Environ. Hyg., 5(1):46-51, 1990

Mocak J., A.M. Bond, S.Mitchell, G. Scollary : A Statisitcal overview of standard(IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques, Pure & Appl. Chem., 69, 297-328, 1997

FDA: Validation of Analytical Procedures : Methodology, Recommended for implementation at step 7 of the VICH Process on 22 October 1998 by the VICH Steering Committee(64. Guidance for Industry), FDA, DHHS, 1998, pp1-13

NIOSH: Guidelines for Air Sampling and Analytical Method Development and Evaluation.(NIOSH Technical Report) USDHHS CDC, 1995 p.3, pp.65-69

Perkins. J.L, G.N. Cutter, M.S. Cleverland : Estimating the Mean, Variance, and Confidence Limits from Censored(<Limit of Detection), Lognormally Distributed Exposure Data. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 51:416-419, 1990

Trallero, J. : Limits of Detection and Limits of Determination in Quantitative Analytical Procedures using Regression Lines solved by the Least-Squares Method, AFINIDAD LVI, 480, 87-98, 1999

Vial, J., A. Jardy : Experimental comparsion of the different approaches to estimate LOD and LOQ of an HPLC Method, Analytical Chemistry 71(14), 2672-2677, 1999