

# GC에서 검출한계 결정을 위한 새로운 접근 방법에 대한 연구

오도석<sup>†</sup> · 신경애 · 이지아 · 임중호 · 신미선

주식회사 에낙

## Study on the new approaching method to determine limit of detection by gas chromatography

Oh Doe Suk<sup>†</sup> · Shin Kyoung Ae · Lee Ji A · Lym Jong Ho · Shin Mi Sun

*Environmental Analysis and Consulting Co. Ltd.*

The purity methods to determine LOD/LOQ using standard deviation of the residual, intercept and blank by IUPAC and ACS describe many of the pitfalls and pose significant challenges to analytical chemists. Therefore, the aim of this study is the development of the simple, easy, convenient and statistically significant method to determine LOD in quantitative analysis of organic solvents by GC. The new approaching method by linearization in the given concentration range used coefficient of variation ;  $\sigma_{n-1}/S$ (standard deviation,  $\sigma_{n-1}$  and average, S) of sensitivity(Response/concentration). The comparison of results among the purity methods(IUPAC and ACS) and the linearization have been fulfilled the F-test for standard deviations and t-test for LOD range values. The results of F-test and t-test are satisfied within 95 % confidence level,

respectably. The LOD values determined by the new procedure are n-Hexane 0.0116 mg/m<sup>3</sup>, Toluene 0.0807 mg/m<sup>3</sup>, and o-Xylene 0.0494 mg/m<sup>3</sup>.

Because the standard deviation of the residual, intercept and blank and the slope of calibration curve are not calculated and the new approaching method use the coefficient of variation of sensitivity by linearization, this new method is simple, easy, convenient and statistically significant. In future, many chemical analysts will expect to applicate and routinely use this method in the all quantitative analysis.

Key Words : linearization, sensitivity, coefficient of variation

접수일 : 2010년 8월 9일, 채택일 : 2010년 10월 13일

† 교신저자 : 오도석(경기도 수원시 팔달구 인계동 1023-14번지 성보빌딩702-3호 주식회사 에낙,  
Tel:031-235-8772, Fax:031-235-8773, E-mail: doesuk@naver.com)

## I. 서론

일반적으로 분석물질의 검출한계(LOD, limit of detection)와 정량한계(LOQ limit of quantitation)를 계산하는 방법으로 IUPAC(International Union of Pure and Applied Chemistry)과 ACS(American Chemical Society)의 정의(J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell and G. Scollary, 1997)에 따른 방법들이 전통적이고 기본적으로 주로 사용되고 있다. IUPAC에서는 LOD를 “적용된 분석과정에서 합당한 확실성으로 검출될 수 있는 최소량으로부터 유도되는 농도나 량”으로, ACS에서는 “분석과정이 신뢰성 있게 검출할 수 있는 분석물질의 가장 낮은 농도”라고 정의하였다. 그러나 이 정의는 종종 만족스럽지 못하고 오차를 일으킬 위험(William R. Porter, 1983)이 있어 분석 화학자에게는 중요한 도전적 문제이다(Izydor Apostol etc., 2009). 그러함에도 불구하고 IUPAC과 ACS의 정의와 방법은 현재 교과서적으로 가장 널리 사용되고 있다. 여기에서 주요한 문제는 a) 큰 수의 관측으로부터 상대적으로 작은 수로의 부정확한 전환으로 정규분포가 사용될 수 없고, b) 신호 영역(domain)을 농도 영역으로 변환하는 수단으로 검정함수를 사용할 필요성, c) LOD값이 개별적 공신호 관측이 작은 신뢰수준( $\alpha$ )에서만 초과할 수 있는 신호 값에 기초한다는 이해력의 부족성과 연관된다는 것이다. 이에 미국환경보호청(EPA, Environmental Protection Agency)에서는 이런 차이를 인식하여 연구 조사를 통해 몇몇 기술보고서가 EPA website(<http://www.epa.gov/ost/methods/det>)에서 출간 되었다. 또한 ICH(International Conference Harmonization)에서는 의약과 생명공학 산업에서 LOD를 “검출이 되나 꼭 정확한 값으로 정량화되지 않는 시료에서의 분석물질의 가장 작은 량”으로 정의하고 LOD를 계산하는 세 가지 다른 접근 방법인 가시적 조사, 신호 대 잡음비, 검량선 기울기의 가변성(variability)을 제안하였으며, 크로마토그래피 방법에서 이 세 가지 방법이 유사한 결과를 보인다고 결론지었다(Vial, A, Jardy, 1999). ICH guideline Q2R1(ICH, 2005)에서는 LOD/LOQ 계산방법으로 아래와 같은 여러 가지를 구체적으로 권고하였다.

1. 검정곡선의 회귀직선으로부터의 y절편(intercept)의 표준편차
2. 검정곡선의 회귀직선으로부터의 잔차(residual)의 표준편차
3. 공시험(blank)의 표준편차
4. 봉우리-봉우리 잡음(peak-to-peak noise)을 이용한 S/N비 ; ICH guideline에서는 기준선 잡음(baseline noise)을 보이는 분석 과정에만 응용될 수 있다고 언급하였다.
5. Root mean square(rms) 잡음을 이용한 S/N비 ;  $S_{rms}=(S_p - p^2/2)^{1/2}$

한편, 산업 환경 분야에서 NIOSH(National Institute for Occupational Safety and Health), OSHA(Occupational Safety and Health Administration)와 MSHA(Mine Safety and Health Administration)등은 1970년대 중반부터 시료포집과 분석방법의 정확성 기준과 평가에 대해 포괄적 토론을 하여왔다. 이에 ISO GUM(Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement)은 이를 특성화하고 측정의 불확정성을 문서화로 표준화하려하고 있다(NIOSH, 2003).

그러나 현재 우리나라의 작업환경측정, 실내공기질측정 및 기타 환경관련업무 측정기관들의 보고서에는 분석물질의 LOD/LOQ를 거의 표기하지 않고 있어 실질적으로 분석된 량이 불검출(N.D, not detected)인지 흔적 량(T, trace) 인지를 판단하기가 어려우며, 대부분의 기관들에 근무하는 분석자들이 LOD/LOQ와 불검출 및 흔적 량에 대한 개념이 미약하고, 오로지 기기에 내장된 여러 가지 프로그램에 의해 자동으로 계산되는 LOD에 의존하는 경향이 크기 때문에 실질적인 자료를 활용한 계산방법에 매우 서투른 것으로 사료된다. 또한 산업안전보건공단(KOSHA)에서 실시한 교육 자료에도 근간은 IUPAC과 ACS의 정의(IUPAC 1976, ACS 1980)를 따르고 있다. 이에 본 연구에서는 IUPAC과 ACS의 방법에 준하면서 통계적으로 의미가 있고 각 기관에서 보다 간편하고 쉽고 편리하게 사용할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 이를 위해 크로마토그래피의 정도관리 시료 분석에 대해 ICH에서 언급한 검정곡선의 잔차 및 절편, 공시험의 표준편차를 이용한 방법과 본 연구에서 시도한 방법인 주어진 직선농도 범위에서 선형화(linearization)(Colin F. Poole and Sheila A. Schuette, 1984, 오도석, 2002)를 한 후 농도에 무관한 감도(sensitivity)로 전환한다. 감도로의 변환 함수(Transformation function)는 검출기 입력에 대한 검출기 출력의 함수적 의존도는 다음과 같이 정의 된다(J. Sevcik, J.E. Lips, 1979). 그것은 일정한 조건(conditions)과 주어진 한도(limits)하에서 필수적인 것으로 감도는 일정하다. 이런 조건하에서 검출기 출력은 검출기 입력에 비례한다.

$$Sensitivity = \frac{output}{input} \Big|_{conditions, limits}$$

직선형 범위는 검출기의 응답이 5% 이내로 일정한 시료 량의 범위이고, 보통 최소 검출 시료 량(minimum detectability/LOD)에 대한 직선성 도시로부터 결정된 가장 높은 시료 량과의 비이다. 따라서 이 방법을 활용하여 선형화한 후 감도의 변이 계수(coefficient of variation,  $\sigma_{n-1}/S$ )를 이용한 LOD 계산을 할 수 있으며, 이 방법에 대해 간단한 통계적 검정(F-test 및 t-test)을 통해 유의성을 검토하여 실질적으로 보다 간편하고 쉽고 편리하게 응용될 수 있도록 하고자 하였다.

## II. 연구방법

### 1) 시약

연구에 사용된 표준 용매는 CS<sub>2</sub>(Kanto, 99%), n-Hexane(Kanto, 96%), Toluene(Junsei, 99%), o-Xylene(Junsei, 98.5%), Trichloroethylene(TCE; Internal standard, Kanto, 99%)를 사용하였다.

### 2) 시료 조제

n-Hexane, Toluene, o-Xylene의 공기 중 노출기준(TLV)는 각각 50 ppm(180 mg/m<sup>3</sup>), 50 ppm(188 mg/m<sup>3</sup>), 100 ppm(455 mg/m<sup>3</sup>)으로 공기를 10 L 채취했을 때의 농도의 0.1~2배로 조제하였다. 각 용매의 순도와 비중을 고려하여 n-Hexane 4 ml, Toluene 5 ml, o-Xylene 6 ml를 20 ml volumetric flask에 넣어 모액(stock solution)으로 하고 이 용액을 10 및 20  $\mu$ l syringe로 각각 1~16  $\mu$ l를 취해 1 ml CS<sub>2</sub>가 들어있는 바이알에 넣어 표준용액을 조제하였다. 각 용매의 물리적 성질 및 공기 중 노출기준과 표준용액의 농도는 Table 1, 2에 보여진다.

### 3) 기기 및 분석 조건

Gas chromatograph; Thermo Finnigan Trace GC, FID detector

Column; TR-V1 30m, 0.25mm, 1.4  $\mu$ m

Temperature;

Injector 200 °C

Column 60 °C 5 min, 25 °C/min to 160 °C

Detector 250 °C

Flow rate;

N<sub>2</sub>; 30 ml/min

H<sub>2</sub>; 30 ml/min

Air; 300 ml/min

Injection volume; 2  $\mu$ l

## III. 연구결과 및 고찰

본 연구에서 LOD 계산방법으로 검토된 선형화 방법은 분석물질의 단위 농도나 질량 신호 출력으로 검출기 성능의 감도(S, sensitivity)를 나타낸다. 유기 용제를 검출하는데 사용되는 검출기는 질량 검출기인 불꽃이온화검출기(FID, flame ionization detector)이며, 이외 농도 검출기인 열전도도검출기(TCD, thermal conductivity detector)의 감도는 각각 다음과 같다.

질량 검출기;  $S=A/w$  A; 봉우리 면적, cm<sup>2</sup> w; 시료 무게, mg

농도 검출기;  $S=AF/W$  F; 흐름 속도, cm<sup>3</sup>/sec

검정곡선에서 직선 범위는 보통 검출한계량으로부터 직선적으로 도시하여 얻어진 가장 높은 시료 량과의 비(figure 1. A)로 표시된다. 일반적으로 분석방법이나 기계의 감도는 분석성분의 작은 차이를 감지해 낼 수 있는 능력으로 검정곡선이 직선일 때의 검정감도(calibration sensitivity)는 농도에 무관하다(이후성 등, 1988). 따라서 주어진 농도 범위에서 검정곡선을 선형화하여 얻은 감도(Sensitivity)의 표준편차와 평균(변이 계수;  $\sigma_n/\text{av. of sens.}$ )을 사용하여 검출한계를 계산하는 방법으로 사용할 수 있을 것으로 사료된다. 이 선형화한 방법을 사용함으로써 검정곡선을 작성하지 않고 쉽고 간편하고 편리하게 LOD를 계산할 수 있어 주어진 데이터를 선형화하여 계산된 표준편차와 평균(변이 계수)을 사용함으로써 통계적으로도 의미를 부여할 수 있다. 한편, 잔차, 절편 및 공시험의 표준편차로 계산되는  $\text{LOD}=3.3\sigma_{n-1}/s$ 에서  $\sigma_{n-1}$ 의 단위는 응답신호(예; area)이고 기울기 s의 단위는 {area/(mg/m<sup>3</sup>)}으로  $\sigma_{n-1}/s$ 의 단위는 바로 mg/m<sup>3</sup>가 된다. 그러나 선형화한 변이 계수는 단위가 없는 계수이므로 이를 농도화하기 위하여 직선 범위에서 제조된 표준용액의 최저 농도를 곱하면 LOD를 계산

Table 1. Purity, specific gravity(s.g.) and TLV in airborne of n-Hexane, Toluene and o-Xylene.

Compd.	Purity, %	s.g., g/ml	M.W.	TLV, ppm	TLV, mg/m <sup>3</sup>	mg/10L					비고
						0.1	0.25	0.5	1	2	
n-Hex	0.96	0.66	86.18	50	180	0.18	0.36	0.9	1.8	3.6	3.6
Tol	0.99	0.866	92.14	50	188	0.188	0.47	0.94	1.88	3.76	3.76
o-Xyl	0.985	0.881	106.17	100	455	0.435	1.088	2.175	4.35	8.7	8.7

Table 2. Preparation of standard solution of n-hexane, toluene and o-xylene.

Compd.	Stock soln., ml	s.g., g/ml	ST.soln.; Stock.soln. $\mu$ l/CS <sub>2</sub> ml, mg/10L					비고
			1	2	4	8	16	
n-Hex	4	0.96x0.66=0.6336	0.1690	0.3380	0.3380	1.3517	2.7034	
Tol	5	0.99x0.866=0.8573	0.2858	0.5716	0.5716	2.2862	4.5725	ST. total
o-Xyl	6	0.985x0.881=0.8678	0.3471	0.6942	0.6942	2.7769	5.5538	vol.;1 ml
Total	15	-	-	-	-	-	-	

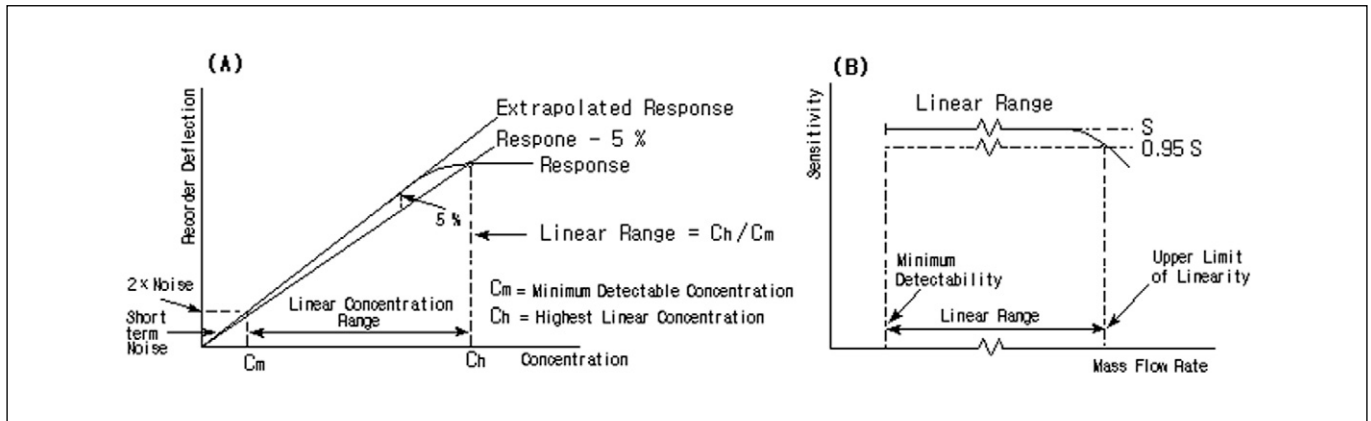


Fig.1 Linear response ranges(A) and sensitivity(B) for detectors.

Table 3. Comparison of standard deviation and LOD calculation methods.

Classifi.	Calculation procedures	Remark
$\sigma_{n-1}$ of residual	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparation of ST soln. ; <math>ST_n, n=1\sim5</math></li> <li>2. Analysis by GC; <math>(x_n, y_n), n=1\sim5</math></li> <li>3. Get calibration curve ; <math>y=ax+b</math> a ; slope(s), b ; Intercept</li> <li>4. Calculation of residual ; <math>y_{ical}=ax_1+b,</math> <math>y_{iresd}=y_1-y_{ical}</math></li> <li>5. Calculation of <math>\sigma_{n-1}</math> for <math>y_{iresd}\sim y_{5resd}</math></li> <li>6. <math>LOD=3.3\sigma_{n-1}/s=A \text{ mg/m}^3</math></li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contribution of background variability to the determination of a response for an analyte at different concentrations.</li> <li>- <math>LOD=3.3\sigma_{n-1}/s</math> ; ICH(1996)</li> <li>- s ; slope of calibration curve</li> <li>- Background noise after analyte concentration is extrapolated to zero.</li> </ul>
$\sigma_{n-1}$ of intercept	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparation of ST soln. ; <math>ST_n, n=1\sim5</math></li> <li>2. Analysis by GC; <math>(x_n, y_n), n=1\sim5</math></li> <li>3. Get calibration curve ; <math>y=ax+b</math> a ; slope(s), b ; Intercept</li> <li>4. Calculation of intercept ; <math>y_{ical}=ax_1+b_1, b_1=y_{ical}-ax_1</math></li> <li>5. Calculation of <math>\sigma_{n-1}</math> for <math>b_1\sim b_5</math></li> <li>6. <math>LOD=3.3\sigma_{n-1}/s=A \text{ mg/m}^3</math></li> </ol>	
$\sigma_{n-1}$ of blank	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Analysis of blank(5~20 times)</li> <li>2. Calculation of average(<math>\bar{b}</math>) and <math>\sigma_{n-1}</math> for blank</li> <li>1) <math>LOD=\bar{b}+3\sigma_{n-1}=A</math></li> <li>2) <math>LOD=3.3\sigma_{n-1}/s=A \text{ mg/m}^3</math></li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- The variability of the background response directly.</li> <li>- <math>LOD=\bar{b}+3\sigma_{n-1}</math></li> <li>- <math>\bar{b}</math>; average of blank</li> </ul>
c.v. of sensitivity	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparation of ST soln. ; <math>ST_n, n=1\sim5</math></li> <li>2. Analysis by GC; <math>(x_n, y_n), n=1\sim5</math></li> <li>3. Linearization ; <math>y_n/x_n=S_n</math></li> <li>4. Calculation of average and average for <math>S_1\sim S_5</math></li> <li>5. <math>LOD=3.3(\sigma_{n-1}/S)x_1=B \text{ mg/m}^3</math></li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- c.v., <math>\sigma_{n-1}/S</math> ; The variability of the background response</li> <li>- <math>LOD=3.3(\sigma_{n-1}/S)x_1</math> ; D.S.OH(2002)</li> <li>- S ; average of sensitivity</li> <li>- <math>x_1</math> ; Min. conc. of ST soln.</li> </ul>

Table 4. Calculation of standard deviation and LOD using n-Hexane ST solution.

ST No.	Conc., mg/m <sup>3</sup>	y	y <sub>cal</sub>	Residual, y-y <sub>cal</sub>	Intercept, b	Sensitivity, y/conc.	Remark
ST1	0.1690	1.0922	0.9942	0.098	-0.0354	6.4627	1. r=0.9997 2. y=6.6725x -0.1335 3. s ; slope 4. Linearization ; S=y/conc.
ST2	0.3380	2.2311	2.1218	0.1093	-0.0242	6.6009	
ST3	0.6758	4.3124	4.3758	-0.0634	-0.1968	6.3812	
ST4	1.3517	8.6056	8.8857	-0.2297	-0.3632	6.3665	
ST5	2.7034	18.041	17.905	0.136	0.0026	6.6734	
av.				0.0100	-0.1234	6.4969	
$\sigma_{n-1}$				0.1552	0.1552	0.1356	
LOD				0.0768	0.0768	0.0116	

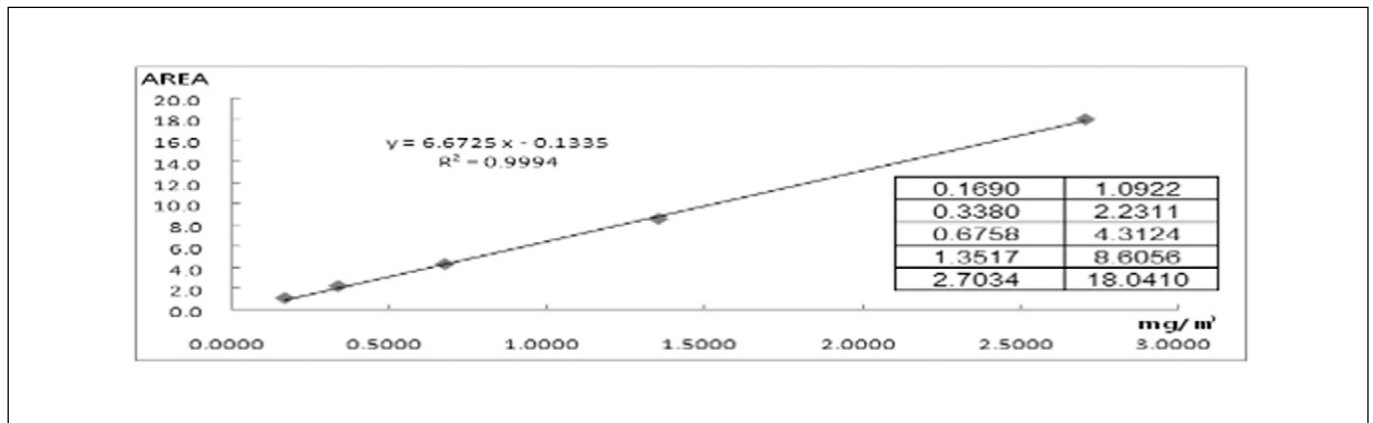


Fig.2 Calibration curve for n-Hexane(three replicates at each concentration).

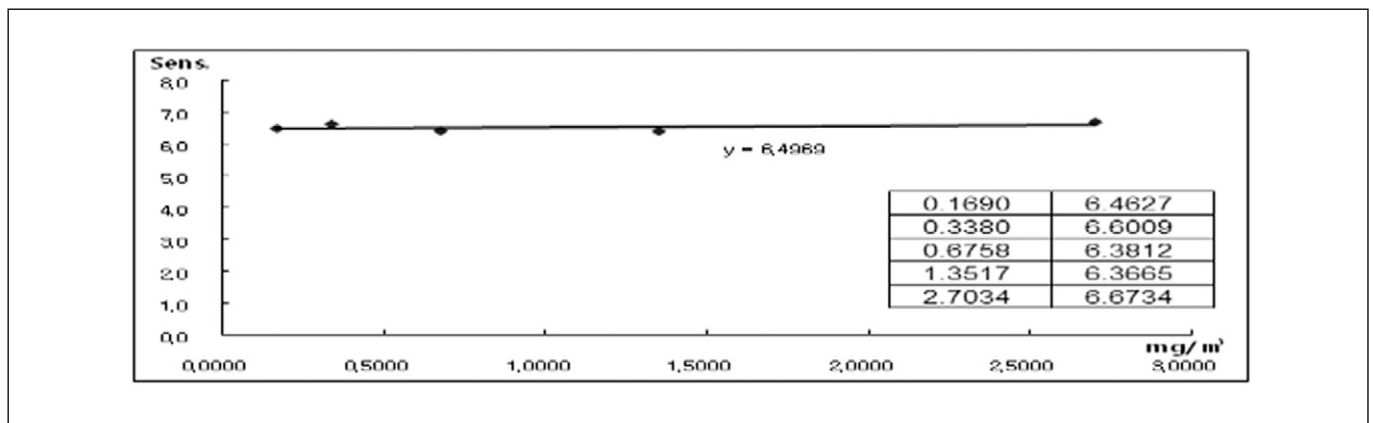


Fig.3 Linearization for n-Hexane calibration curve.

할 수 있다( $LOD=3.3(\sigma_{n-1}/av. \text{ of sens.})x_i=B \text{ mg/m}^3$ )(Figure 1. B). 본 연구에서는 기준선 잡음을 이용한 신호 대 잡음(S/N)비는 분석조건에서 잡음을 눈으로 확인하기 어려워 제외하였다. Table 3에서 보는바와 같이 잔차, 절편, 공시험 및 선형화를 이용한 표준편차의 계산 절차와 의미를 제시하였다. 본 연구에서 검토된 순수 방법(잔차, 절편 및 공시험)과 선형화한 방법으로 계산된 표준편차와 LOD 결과는 Table 4와 같고, n-

Hexane에 대한 검정곡선과 선형화된 그래프는 Figure 2, 3과 같다.

n-Hexane, Toluene 및 o-Xylene의 조제된 표준용액을 분석 조건에 따라 분석하여 검정곡선의 잔차, 절편 및 공시험에 의해 계산된 표준편차( $\sigma_{n-1}$ )와 본 연구에서 개발하여 사용한 선형화에 의한 표준편차는 분산검정(F-test)을 통해 각 분산의 차이를 검정한 결과 서로는 95 %내에서 유의하였다. 공시

**Table 5. Average and  $\sigma_{n-1}$  using blank( $CS_2$ ) and internal standard(TCE).**

Area	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	av.	$\sigma_{n-1}$
$CS_2$	1810	2603	2063	1520	2732	1830	1771	2847	3763	2048	2299	647
Int.ST	21850	23456	27564	19876	20766	18785	22345	24790	20985	26572	22699	2728

**Table 6. Comparison of  $\sigma_{n-1}$  and LOD( $mg/m^3$ ) of residual, intercept, blank test and linearization using n-Haxane, Toluene and o-Xylene ST solution.**

Compd.	Calibration curve		Blank test		Sensitivity	
	Residual	Intercept	$CS_2$	$CS_2/Int.ST$		
n-Hex	$\sigma_{n-1}$	0.1552	0.1552	-	-	0.1356
	LOD	0.0768	0.0768	0.0031	0.0036	0.0116
Tol	$\sigma_{n-1}$	0.1272	0.1277	-	-	0.5793
	LOD	0.0684	0.0686	0.0026	0.0026	0.0807
o-Xyl	$\sigma_{n-1}$	0.4516	0.4523	-	-	0.2717
	LOD	0.2567	0.2571	0.0031	0.0031	0.0494

$$F = \text{explained variance} / \text{unexplained variance} = \sigma_1^2 / \sigma_2^2$$

F table 2.5 %, F(4,4)=9.60

Remark

- 1) n-Hexane ;  $F = (0.1552)^2 / (0.1356)^2 = 1.31 \therefore 1.31 < 9.60$  significant
- 2) Toluene ;  $F = (0.1272)^2 / (0.5793)^2 = 0.045 \therefore 0.05 < 9.60$  significant
- 3) o-Xylene ;  $F = (0.4516)^2 / (0.2717)^2 = 2.76 \therefore 2.76 < 9.60$  significant

**Table 7. Calculation of 95 % confidence level using each standard deviations.**

Classification	n-Hexane	Touene	o-Xylene
LOD data ; residual, intercept, blank( $CS_2$ , $CS_2/TCE$ ) and c.v., of sensitivity	0.0768, 0.0768, 0.0031, 0.0036, 0.0116	0.0684, 0.0686, 0.0026, 0.0026, 0.0807	0.2567, 0.2571, 0.0031, 0.0031, 0.0494
Average	0.0344	0.0446	0.1139
$\sigma_{n-1}$	0.0389	0.0386	0.1319
Range; 95 % ( $R_{95}$ )	-0.0434~0.1122	-0.0326~0.1218	-0.1499~0.3777
( $R \geq 0$ )	(ca 0.0000~0.1122)	(ca 0.0000~0.1218)	(ca 0.0000~0.3777)
$\pm 2\sigma_{n-1}$	-0.0139~0.0827	-0.0033~0.0925	-0.0498~0.2776
$\mu \pm ts/n^{1/2}$	(ca 0.0000~0.0827)	(ca 0.0000~0.0925)	(ca 0.0000~0.2776)
Remark	t(p, $\varphi$ ) ; t(0.05, 4)=2.776, $\varphi=n-1$		

Table 8. Guidelines for reporting data

$\sigma_{n-1}$	Region of reliability	Remark
$<3\sigma_{n-1}$ , $3.3\sigma_{n-1}/s=A$ , and $3.3(\sigma_{n-1}/S)x_1=B$ $3\sigma_{n-1}$ , A & B	Not detected(ND) ; Region of questionable detection(and therefore unacceptable)	s ; slope of calibration curve S ; av. of linear sensitivity $\sigma_{n-1}/S$ ; coefficient of variation of sensitivity
$3\sigma_{n-1}$ to $10\sigma_{n-1}$ , A~ $3A$ & B~ $3B$	LOD ; Limit of detection Trace(T) ; Region of less-certain quantitation	$x_1$ ; min. conc. of calibration curve
$10\sigma_{n-1}$ , 3A & 3B $>10\sigma_{n-1}$ , 3A & 3B	LOQ ; Limit of quantitation Region of quantitation	curve

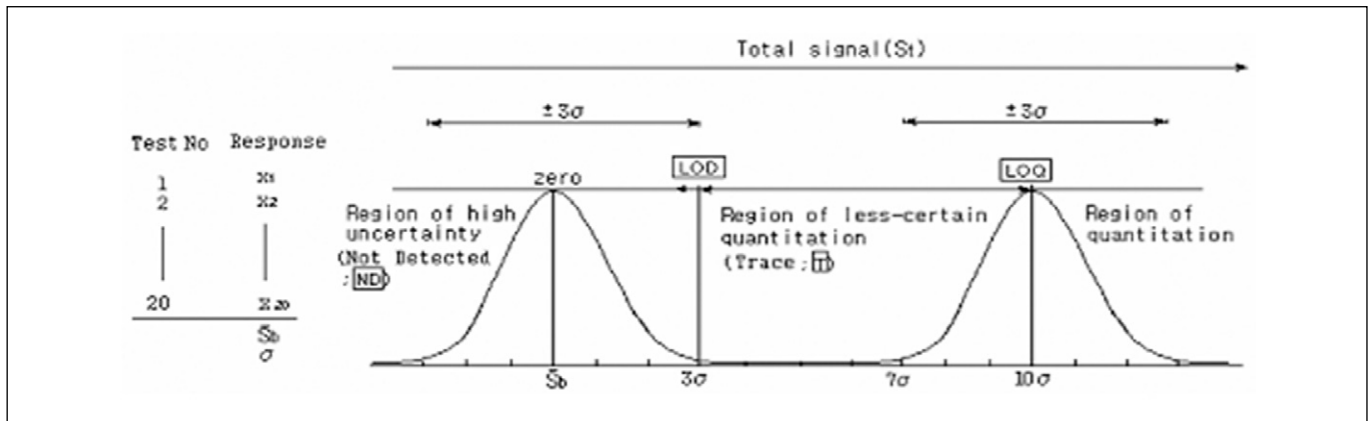


Fig. 4 Guideline for ND, LOD, T and LOQ of ACS.

힘을 사용한 표준편차를 구하는 방법으로 CS<sub>2</sub> 공시험 용액을 같은 분석조건하에서 10회 반복 분석하여 계산된 표준편차를 이용하여 n-Hexane, Toluene 및 o-Xylene의 LOD를 계산한 결과와 내부 표준물질로 TCE(trichloroethylene)를 혼합하여 CS<sub>2</sub>면적/TCE면적 비를 이용하였을 때의 LOD계산 결과는 Table 5, 6과 같으며, 공시험 용액과 내부표준물질을 이용 시 계산된 결과는 잘 일치하였다. 따라서 정량 시 외부표준법(external standard method)이나 내부표준법(internal standard method)중 어느 방법으로 LOD를 계산하여도 좋을 것으로 사료된다. 한편, 잔차, 절편, 공시험 및 선형화에 의해서 얻어진 LOD값을 정규분포곡선의 95%내인  $\bar{x} \pm 2\sigma_{n-1}$ 와 t-test( $t = \bar{x} \pm ts/n^{1/2}$ )를 통해 95% 신뢰구간 내에서의 범위를 계산한 결과 모든 값이 신뢰구간 내에 들어갔으며 그 결과는 Table 7과 같다. 또한 위에서 제기된 방법들인 검정곡선에서의 잔차, 절편 및 공시험의 표준편차와 본 연구에서 제시한 선형화 후 감도의 표준편차를 이용하여 계산한 검출한계와 정량한계를 실제적인 분석 data에 적용하기 위하여서는 불검출, 검출한계, 흔적량 및 정량한계(ACS 1983)의 4단계로 구분하여 사용하는 것이 바람직하다고 사료된다(Table 8 및 Figure 4).

#### IV. 결론

현대의 분석화학은 기기분석으로 주로 분석에 영향을 주는 인자는 4M(man, material, method, machine)이다. 이 4M이 물질 분석에서 주로 오차를 일으키는 원인이 되고 이들을 어떻게 통제하느냐에 따라서 검출한계(LOD, limit of detection)에도 지대한 영향을 미친다. 이 중 주요 원인인 사람(man)인 분석자들은 현실적으로 대부분이 검출한계의 계산방법에 매우 서투르며, 기존의 IUPAC, ACS, 및 FDA 등의 LOD 계산방법도 간단하지가 않다. 따라서 본 연구에서는 통계적으로 의미가 있으며 분석자들이 쉽고, 간단하며, 편리하게 LOD를 계산할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 그 결과는 아래와 같다.

1) 기존의 IUPAC과 ACS의 LOD 계산방법인 검정곡선의 잔차, 절편 및 공시험에 의한 표준편차와 검정곡선의 기울기를 이용하는 대신 주어진 직선범위의 농도에서 각 응답을 농도로 나누어 선형화(linearization)한 감도(sensitivity, S)를 이용하여 이 값들의 평균 및 표준 편차를 이용한 변이 계수(coefficient of variation ;  $\sigma_{n-1}/\text{감도 평균}$ )를 활용함으로써 간단하

지만 통계적으로 의미를 가질 수 있다.

2) 선형화함으로서 검정곡선의 잔차, 절편을 계산하지 않아도 된다. 따라서 분석자들이 쉽고 간단하며 편리하게 LOD를 계산할 수 있다.

(1) IUPAC, ACS의 LOD 계산방법

$$\text{LOD} = 3.3\sigma_{n-1}/s$$

$\sigma_{n-1}$ ; 검정곡선의 잔차, 절편의 표준편차 및 공시험의 표준편차

s; 검정곡선의 기울기

(2) 선형화에 의한 LOD 계산방법

$$\text{LOD} = 3.3(\sigma_{n-1}/S)x_1$$

$\sigma_{n-1}$ ; 선형화된 감도의 표준편차

$S_1 + \dots + S_n/n$ , 감도의 평균,  $n=3\sim 5$

$x_1$ ; 검정곡선의 최저 농도

3) 검정곡선의 잔차, 절편, 공시험의 표준편차와 선형화(linearization) 후 감도(sensitivity)의 표준편차에 대해 분산검정(F test; F table 2.5%,  $F(4, 4)=9.60$ )을 한 결과 95% 신뢰한계 내에서 유의하였으며, 위의 4가지 방법(잔차, 절편, 공시험 및 선형화)으로 얻어진 LOD값에 대해 정규분포곡선( $\pm 2\sigma_{n-1}$ )과 t-test( $t(0.05, 4)=2.776$ ,  $\mu = x \pm ts/n^{1/2}$ )를 한 결과 95% 신뢰구간 내에 모두 포함되었다. 검정곡선에 의한 잔차와 CS<sub>2</sub> blank의 표준편차를 이용한 LOD는 n-Hexane 0.0768(0.0031) mg/m<sup>3</sup>, Toluene 0.0684(0.0026) mg/m<sup>3</sup>, o-Xylene 0.2567(0.0031) mg/m<sup>3</sup>이었고, 선형화 후 감도의 변이 계수 이용한 LOD는 n-Hexane 0.0116 mg/m<sup>3</sup>, Toluene 0.0807 mg/m<sup>3</sup>, o-Xylene 0.0494 mg/m<sup>3</sup>이었다.

4) 선형화 후 감도의 변이 계수를 사용하여 LOD를 계산하는 방법은 정량분석의 모든 분야(분광학, 전기화학, 크로마토그래피 등)에 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- 오도석 著, THE CONCENTRATED CHROMATOGRAPHY, 芝山, 47~56, 2002
- 이후성, 채명준, 김하석 편저, 분석화학 제2장. 도서출판 동화기술; 1988
- ACS Committee on Environmental Improvement. Anal. Chem. 52, 2242, 1980
- ANALYTICAL CHEMISTRY, VOL.55, 2217, 1983
- Colin F. Poole and Helia A. Schuette, Contemporary practice of chromatography, 5.7.5 Performance Characteristic of Liquid Chromatography Detector, 1984
- Guidance for Industry, Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology, ICH, 8, 1996
- International Conference on Harmonization, Harmonized tripartite guideline Q2R1, Validation of analytical procedures, ICH Q2R1, 1~13, 2005
- IUPAC, Analytical Chemistry Division. Pure Appli. Chem. 45, 99, 1976
- Izydor Apostol etc., Analytical Biochemistry, 385, 101~106, 2009
- J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell and G. Scollary, Pure & Appli. Chem., Vol. 69, No. 2, p. 298, 1997
- J. evk, J.E. Lips, Chromatographia, Vol. 12, No. 10, Oct., 693, 1979
- NIOSH Manual of Analytical Methods, 208~210, 2003,
- J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell and G. Scollary, Pure & Appli. Chem., Vol. 69, No. 2, p. 298, 1997
- Vial. A, Jarly, Experimental comparison of the different approaches to estimate LOD and LOQ of an HPLC method, Anal. Chem. 71, 2772~2677, 1999
- William R. Porter, Anal. Chem., 55, 1983, 1290A, 1983