

환경시료 측정에서 분석자의 숙련도가 분석결과에 미치는 영향

윤석표^{a†}, 강성민^b, 손연미^b, 전강원^b

The Effect of Proficiency in Environmental Sample Measurement on Analysis Results

Seok-Pyo Yoon^{a†}, Seong Min Kang^b, Yeonmi Son^b, Gang Weon Jeon^b

(Received: Apr. 12, 2021 / Revised: Jun. 13, 2021 / Accepted: Jun. 14, 2021)

ABSTRACT: This study investigated how the indicators of quality control are improved by proficiency in the measurement of phosphate concentration. In addition, analysis equipments were to be compared to see if there were any differences in measurements depending on the type of analysis device. In order to find out the effect of the proficiency of the analyst on the analysis results, three analysts measured phosphate concentration seven times in accordance with the Korean water pollution test standards, and met the quality control indices if repeated more than five times. The limit of quantification for phosphate was calculated at 0.02 mg/L. If the analysis devices are different, the absorbance and concentration of the samples near the limit of quantification are statistically significant difference.

Keywords: Phosphate, Method detection limit, Limit of quantification, Quality control, Proficiency

초 록: 본 연구는 인산염 인 농도 측정과 관련하여 숙련도에 의해서 정도관리의 지표가 어떻게 개선되는지를 조사하였다. 아울러 분석기기의 종류에 따른 측정값의 차이가 있는지 함께 비교하였다. 분석자의 숙련도가 분석결과에 미치는 영향을 알아보기 위해 3인의 실험자가 2종의 분석기기를 사용하여 수질오염공정시험기준에 따라 인산염 인을 7회에 걸쳐서 방법검출한계와 정량한계를 측정하였으며, 실험결과 5회 이상 반복실험하면 정도관리지표를 만족하였다. 인산염 인의 정량한계는 0.02 mg/L로 계산되었으며, 분석기기가 다른 경우 정량한계 부근의 시료에 대한 흡광도와 농도가 통계적으로 유의미하게 차이가 있음을 확인하였다.

주제어: 인산염 인, 방법검출한계, 정량한계, 정도관리, 숙련도

^a 세명대학교 바이오환경공학과 정교수(Professor, Department of Biological and Environmental Engineering, Semyung University)

^b 세명대학교 바이오환경공학과 학부생(Undergraduate Student, Department of Biological and Environmental Engineering, Semyung University)

† Corresponding author(e-mail: yoonsp@semyung.ac.kr)

1. 서론

우리나라는 「환경분야 시험·검사 등에 관한 법률」을 2006년에 제정하였으며, 이 법에 의해 환경오염공정시험 기준을 고시하고 있다. 또한 동법에서는 정도관리에 대하여 규정하고 있는데, 정도관리의 판정기준으로 표준시료의 분석능력에 대한 숙련도가 포함되어 있다. 숙련도 시험 판정은 Z 값 ($|Z| \leq 2$), 오차율($\pm 30\%$ 이하) 등을 사용하여 평가한다¹⁾. Z 값은 측정값의 정규분포 변수로서 대상기관의 측정값과 기준값의 차를 측정값의 분산정도 또는 목표표준편차로 나눈 값으로 산출한다.

$$Z = \frac{x - X}{s}$$

여기서, x : 대상기관의 측정값

X : 기준값

s : 측정값의 표준편차

$$\text{오차율}(\%) = \frac{\text{대상기관의 분석값} - \text{기준값}}{\text{기준값}} \times 100$$

이때 기준값은 시료의 제조방법, 시료의 균질성 등을 고려하여 표준시료 제조값, 전문기관에서 분석한 평균값, 인증표준물질과의 비교로부터 얻은 값, 대상기관의 분석 평균값 중 하나를 선택한다.

수질오염공정시험기준 ES 04001.b에는 정도보증/정도관리가 규정되어 있는데, 방법검출한계, 정량한계, 정밀도, 정확도 등에 대하여 정의하고 있다²⁾.

분석의 정도관리의 목적은 대표성 있는 시료를 확보하고 그 시료를 분석할 때 품질의 지표라고 할 수 있는 정밀도와 정확도를 분명히 파악하여 누구나 신뢰할 수 있는 자료를 계속적으로 생산하는 데 있다³⁾.

방법검출한계(method detection limit, MDL)는 어떠한 매질 종류에 측정항목이 포함된 시료를 시험방법에 의해 시험 검사한 결과가 99% 신뢰수준에서 0보다 분명히 큰 최소농도로 정의한다⁴⁾. 보통 7개의 시료에 대하여 표준편차를 구하고, 이로부터 단측검증일 경우 자유도 6일 때의 t 분포 값이 3.143이므로 $MDL = 3.143 \times s$ 로 계산한다. 즉, 방법검출한계는 7

회 반복실험에서 99% 확률로 검출될 수 있는 최소의 농도, 다시 말하면 실제로 물질이 존재하는데 검출되지 않을 확률이 1% 미만인 최소 농도를 말한다(Fig. 1).

본 연구에서는 대학교 환경공학 관련 학과에 재학 중인 학부 4학년 학생을 대상으로 하수처리시 기본적인 수질오염물질 제거대상물질인 인산염 농도 측정과 관련하여 숙련도에 따른 정도관리의 지표가 어떻게 개선되는지를 조사하였다. 아울러 분석기기의 종류에 따른 측정값의 차이가 있는지를 함께 비교하여, 분석장비와 분석자의 숙련도가 분석결과에 미치는 영향을 파악하고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

측정대상항목은 인산염 인으로 하였으며, 분석방법은 수질오염공정시험기준 상의 아스코르빈산 환원법으로 분석하였다⁵⁾. 공정시험기준에서 제시하고 있는 정량한계는 0.003 mg/L이다. 검정곡선의 결정계수(R^2)은 0.98 이상, 정밀도는 상대표준편차가 $\pm 25\%$ 이내, 정확도 75% ~ 125%를 정도관리 목표 값으로 하고 있다.

분석에 사용한 분광광도계는 Shimadzu사의 UV-2700 (Japan)과 Mecasys사의 Optizen 2120UV QX (Korea) 2종을 동시에 사용하여 흡광도와 농도를 비교하였다.

MDL 분석을 위한 시료의 농도는 예비실험을 통해 기기의 정량한계로 판단한 0.02 mg/L를 분석자가 각

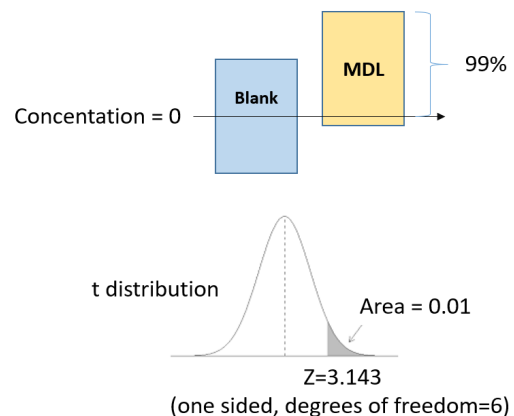


Fig. 1. Concept of method detection limit.

자 조제하여 표준편차를 구하였으며, 측정농도 계산을 위한 검정곡선은 0.1, 0.4, 0.8, 1 mg/L의 4개 표준용액을 만들어서 작성하였다(흡광도 범위 0.15~0.74).

표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 계산하였다^{5,6)}.

실험은 환경공학을 전공한 학부 4학년 학생 3인이 사전 예비실험 후 15일 동안 총 7회에 걸쳐서 인산염 인에 대한 검정곡선 작성과 방법검출한계 분석을 실시하였다. 각자가 검정곡선 작성에 필요한 표준용액과 방법검출한계 분석에 필요한 0.02 mg/L 농도의 시료 7개를 제조한 후, 2종의 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하고, 이로부터 방법검출한계, 정량한계, 정밀도, 정확도 등을 측정하고, 실험 회차에 따라 숙련도가 변화하는 것을 관찰하였다. 아울러 분광광도계 간의 분석결과의 차이가 있는지도 비교하였다.

$$\text{방법검출한계} = 3.143 \times s$$

$$\text{정량한계} = 10 \times s$$

$$\text{정밀도} = \frac{s}{x} \times 100$$

$$\text{정확도} = \frac{\text{측정값}}{\text{참값}} \times 100$$

여기서, s : 방법검출한계 측정에 사용된 7개 분석시료의 표준편차 (mg/L)

3. 결과 및 고찰

3.1. 분석회차에 따른 숙련도 변화 추이

Fig. 2는 Optizen 2120UV를 이용하여 회차별로 3인의 실험자가 얻은 기기의 정량한계의 평균값과 표준편차의 변화추이를 나타낸 그래프이다. 측정횟수가 많아져서 분석방법이 숙달됨에 따라 정량한계의 평균값과 실험자 간 측정값의 표준편차가 줄어드는 경향을 볼 수 있으며, 5회 측정시에 상대표준편차가 5.1%로 가장 낮아졌으며, 정확도는 6회차부터 75% ~ 125% 이내에 들어왔다.

분석에 있어서 숙련도에 미치는 영향을 살펴보면, 우선 검정곡선 작성과 방법검출한계 측정에 사용하

는 시료를 제조하는 과정에서 시약의 무게 측정이나 희석시 오차가 발생할 수 있다. 희석시 사용하는 용량플라스크의 부피가 부정확할 가능성도 있을 수 있으나, 용량플라스크의 표선에 맞추어 증류수를 채운 후 무게를 측정한 결과 이러한 가능성은 낮았다. 하지만, 방법검출한계 측정에 사용하는 시료의 농도는 정량한계 부근의 낮은 농도이므로, 표준원액에서부터 여러 번의 희석과정에서 오차가 누적될 수 있으므로 각별한 주의가 요구된다. 또한 분석단계에서 실험실 온도나 방치시간의 조건이 상이한 경우 차이가 발생할 수 있다.

Fig. 3의 인산염 인에 대한 검정곡선의 예를 보면 농도/흡광도의 비가 1.48로 흡광광도계에서 측정하

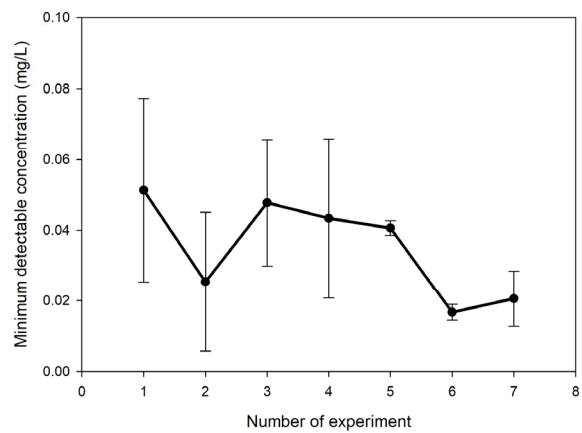


Fig. 2. The change in the average and standard deviation of the detection limits according to number of experiment.

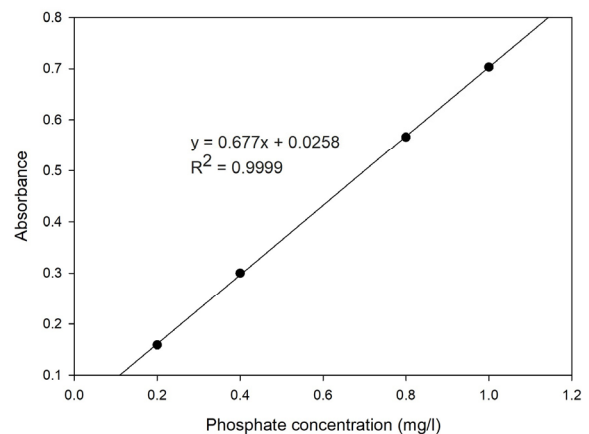


Fig. 3. Calibration curve for phosphate measurement by 2120UV QX.

흡광도를 농도로 환산하는 경우 흡광도의 변화폭보다 농도의 변화폭이 약 1.5배로 커지므로, 흡광도의 정밀도가 4 %일 때, 농도의 정밀도는 13%까지 높아지는 현상이 발생하였다. 따라서 여러 요인에 의하여 표준용액과 측정시료의 흡광도에 오차가 발생하면 계산되는 측정농도는 더 크게 오차가 발생하게 된다.

수질오염공정시험기준 상의 정량한계는 0.003 mg/L로 제시되어 있는데, 본 연구에서는 0.02 mg/L의 값으로 계산되어 공정시험기준 보다 6.7배 큰 값이 도출되었다. 따라서 수질오염공정시험기준 상의 정량한계는 매우 숙달된 분석인력이 흡광광도계의 흡광도에 대한 검출능력이 우수한 장치를 사용하여 얻은 최상의 조건에서 얻을 수 있는 값이라고 판단되며, 실제 현장에서는 본 연구에서와 같이 수질오염공정시험기준에 있는 수치보다는 다소 높은 정량한계값을 얻을 것으로 판단된다. 따라서 분석기관별로 별도의 자체 정량한계값을 도출하여 제시할 필요가 있다.

Fig. 4는 방법검출한계 계산을 위해 분석자별로 0.02 mg/L 농도로 제조한 7개 시료에 대한 측정값의 평균값을 다시 분석자 모두의 평균과 표준편차로 나타낸 것이다. 실험횟수가 증가함에 따라 5회차부터 측정값이 각자가 제조한 농도 0.02 mg/L에 수렴하고, 분석자들 간의 측정값의 편차가 줄어드는 것을 볼 수 있다. 2, 3회차에 측정값이 (-)농도가 나오는 것은 본 연구에서 산정된 정량한계가 0.02 mg/L

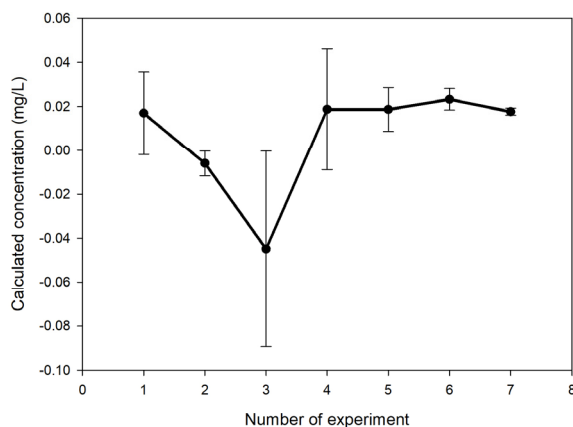


Fig. 4. Calculated concentration of sample for method detection limit estimation.

임에 따라(즉, 분석가능한 범위의 하한치에 위치하므로) 시료의 흡광도는 (-)가 아님에도 불구하고, 도출된 검정곡선식에 대입하였을 때 농도 값이 (-)로 계산되는 것에 기인한다.

Fig. 5는 UV-2000을 이용한 분석자 별로 회차별 흡광도에 대한 상대표준편차를 나타내었고, Fig. 6은 측정 농도에 대한 상대표준편차이다. 흡광도의 정밀도는 4회차 이후 대부분의 분석자 10% 미만의 안정적인 값을 보이고 있으나, 농도에 대한 정밀도의 경우 측정농도가 정량한계 근처인 관계로 흡광도가 (+)값을 나타냄에도 불구하고, 0 부근의 농도 값을 보임에 따라 정밀도 계산시 분모의 값이 작아지는 관계로 2회차에서 -77%, -155%, 4회차에서

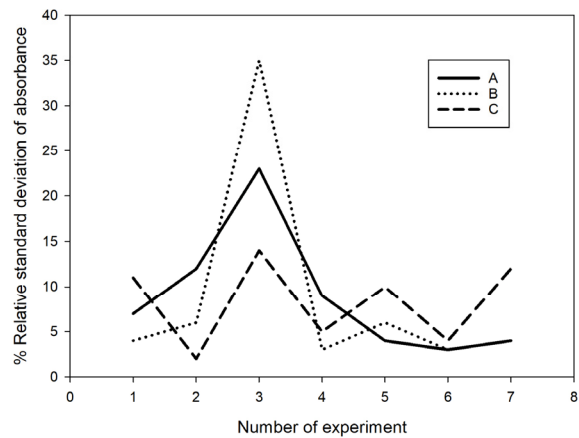


Fig. 5. Trend of relative standard deviation of absorbance by analyst.

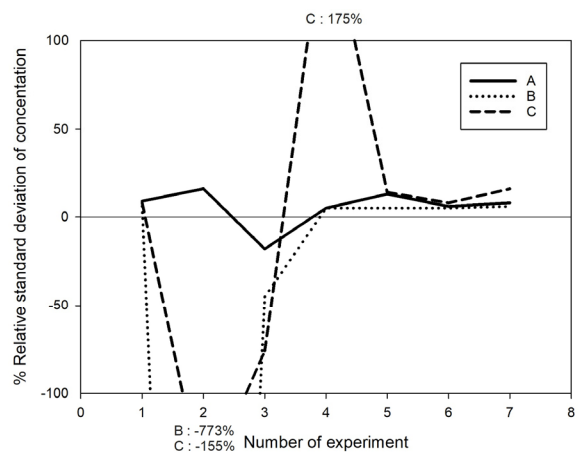


Fig. 6. Trend of relative standard deviation of concentration by analyst.

175%를 나타내는 경우가 발생하였다. 이는 단순히 계산상의 특이사항으로 정밀도가 낮다고는 볼 수 없다.

Table 1에서는 반복 측정에 의해 분석의 숙련도가 높아짐에 따른 각종 정도관리 지표의 변화추이를 분석자별, 분석기기의 종류별로 정리하였다. 인산염 인의 경우 5회차 정도로 반복 실험하여 숙달되면 정밀도, 정확도, 검량곡선의 R²값 등이 정도관리 지표를 만족하는 것을 볼 수 있다. 측정값의 농도는 앞에서 언급한 것과 같이 정량한계 부근의 값인 관계로 간혹 (-)농도가 계산되는 경우도 있으나 숙련도가 높아짐에 따라 조제한 농도 0.02 mg/L에 수렴하는 것을 확인할 수 있다.

다만, 정량한계는 수질오염공정시험기준에서 제시하고 있는 0.003mg/L값을 2종의 분석기기 모두 맞출 수 없음을 확인하였고, 대략 0.02 mg/L가 본 연구에서 구한 정량한계 값이었다.

3.2. 분석기기에 따른 측정값의 차이 비교

동일한 시료를 분석기기를 달리하였을 때[Shimadzu사의 UV-2700 (Japan)과 Mecasys사의 Optizen 2120UV QX (Korea)], 기기간의 흡광도와 농도 값의 차이가 있는지를 비교하였다. 분석자의 숙련도가 높아진 5회차부터 3인이 각자 측정한 7개의 방법검출한계 분석용 시료를 2종의 분석기기에서 동시에 측정하여 측정값의 차이를 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 나는지를 비교하였다⁷⁾. 두 분석기기 간의 측정값의 결과 차이는 Table 2와 같다.

두 기기간의 흡광도의 차이가 있는지를 비교하면

$$\text{표준오차} = \frac{\text{차이값의 표준편차}}{\sqrt{\text{측정횟수}}} = \frac{0.00422}{\sqrt{63}} = 0.000531$$

95% 신뢰구간에서 차이 값의 범위 = 차이 값의 평균 ± 표준오차 × t_{0.025,62} = 0.000192~0.002316로서 95% 신뢰구간 내에 0의 값을 포함하지 않으므로 동일 시료에 대하여 통계적으로 차이가 남을 알 수 있다.

마찬가지로, 두 기기간의 농도의 차이가 있는지

Table 1. Changes in Quality Control Items by Number of Measurements

model	# of measurement	1	2	3	4	5	6	7
Optizen 2120UV	limit of quantification (mg/L)	0.0513	0.0254	0.0478	0.0434	0.0406	0.0167	0.0205
	RSD (%)	57%	-159%	-16%	-10%	25%	7%	12%
	accuracy (%)	85%	-30%	-224%	94%	94%	117%	88%
	measured conc. (mg/L)	0.017	-0.0059	-0.0449	0.0188	0.0187	0.0234	0.0177
	calibration curve R ²	0.9883	0.998	0.9917	0.9978	0.9997	0.9971	0.9994
UV-2000	limit of quantification (mg/L)	0.0255	0.0335	0.0686	0.042	0.0268	0.0139	0.0214
	RSD (%)	8%	-304%	-46%	62%	11%	6%	10%
	accuracy (%)	169%	55%	-89%	145%	136%	113%	106%
	measured conc. (mg/L)	0.0338	0.0111	-0.0178	0.0289	0.0271	0.0226	0.0211
	calibration curve R ²	0.9909	0.995	0.9952	0.996	0.9997	0.9975	0.9993

Table 2. Comparison of Measurement Differences between Two Analytical Instruments

	Absorbance	Concentration
Mean of differences	0.0013	0.0036
Standard deviation of differences	0.00422	0.00613
No of measurements	63	63
Standard error	0.000531	0.000773
Confidence interval	0.000192~0.00232	0.00203~0.00512

를 비교하면

$$\text{표준오차} = \frac{\text{차이값의 표준편차}}{\sqrt{\text{측정횟수}}} = \frac{0.00422}{\sqrt{63}} = 0.000531$$

95% 신뢰구간에서 차이 값의 범위 = 차이 값의 평균 \pm 표준오차 $\times t_{0.025,62} = 0.00203 \sim 0.00512$ 로서 95% 신뢰구간 내에 0의 값을 포함하지 않으므로 동일 시료에 대하여 통계적으로 차이가 남을 알 수 있다.

이는 측정값의 정확도가 차이난다는 것은 아니며, 정량한계 측면에서 측정기기에 따라 값의 차이가 있음을 의미하므로 측정값의 분석 전에 해당기에 대한 방법검출한계나 정량한계를 평가하고, 이를 근거로 측정값을 제시하여야 함을 보여준다.

4. 결 론

분석자의 숙련도가 분석결과에 미치는 영향을 알아보기 위해 3인의 실험자가 2종의 분석기기를 사용하여 수질오염공정시험기준에 따라 인산염 인을 7회에 걸쳐서 측정하며 방법검출한계와 정량한계를 계산하였으며, 이로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 측정횟수가 많아져서 분석방법이 숙달됨에 따라 정량한계의 평균값과 실험자 간 측정값의 표준편차가 줄어드는 경향을 볼 수 있으며, 5회 측정시에 상대표준편차가 5.1%로 가장 낮아졌으며, 정확도는 6회차부터 75% ~ 125% 이내에 들어왔다.
2. 인산염 인에 대한 검정곡선에서 농도/흡광도의 비가 1.48인 관계로 흡광도의 정밀도가 4%일 때, 농도의 정밀도는 13%까지 높아지는 현상이 발생하였다.
3. 수질오염공정시험기준 상의 정량한계는 0.003 mg/L로 제시되어 있는데, 본 연구에서는 0.02 mg/L의 값으로 계산되어 공정시험기준 보다 6.7배 큰 값이 도출되었다.
4. 인산염 인의 경우 5회차 정도로 반복 실험하여 숙달되면 정밀도, 정확도, 검량곡선의 R²값 등이 정도관리 지표를 만족하는 것을 볼 수 있었다.
5. 동일 시료를 2종의 다른 분석기기[Shimadzu사의 UV-2700 (Japan)과 Mecasys사의 Optizen 2120UV

QX (Korea)]로 흡광도와 농도를 분석한 결과 통계적으로 유의미하게 측정값의 차이가 있음을 확인하였으며, 이는 분석기기별로 정량한계가 차이남을 보여주었다.

사 사

본 연구는 환경부의 폐자원에너지화·재활용 전문인력 양성사업으로부터 지원을 받았습니다.

References

1. [환경분야 시험·검사 등에 관한 법률 시행규칙] Enforcement Rules of the Environmental Testing, Inspection, etc. Act., (2020).
2. [수질오염공정시험기준] QA/QC, ES 04001.b, Standard Method for water pollution process, (2014).
3. Hwang, B.-H., Jun, I., Kang, H.-C. and Seo, Y.-C., "Quality Control for the Analysis of Heavy Metals in Herbal Medicine", J. of the Korean Society for Environmental Analysis, 15(4), pp. 275~281. (2012).
4. [환경시험·검사 QA/QC 핸드북, 제2판] QA/QC Handbook for Environmental Testing, 2nd ed., National Institute of Environmental Research, (2011).
5. [수질오염공정시험기준] Phosphorus-P-UV/Visible Spectrometry-Ascorbic Acid Method, ES 04360.2c, Standard Method for water pollution process, (2015).
6. Bernal, E., "Limit of Detection and Limit of Quantification Determination in Gas Chromatography", in Advances in Gas Chromatography, edited by Guo, X. (2014). <https://www.intechopen.com/books/advances-in-gas-chromatography/limit-of-detection-and-limit-of-quantification-determination-in-gas-chromatography>
7. Walpole, R. E., Myers, R. H., Myers, S. L. and Ye, K., Probability & Statistics for Engineer & Scientists, 7th ed., Prentice Hall, (2002).