

검출·정량한계의 정의와 적용

권진욱

국립수의과학검역원

1. 서론

첨단 분석 기술을 이용한 잔류모니터링 결과의 독성학적 위해성 평가인지, 독성학에 바탕을 둔 위해성 평가 예측 결과를 확인하기 위한 잔류모니터링인지, 이화학분석과 독성학의 선후가 모호해진 최근의 유해물질 연구·조사 행태 속에서, 독성학적 관점이 지나치게 강조되어 식품 및 환경 중 화학물질의 안전성확보를 위한 조사 농도 수준의 요구도가 최신 분석기술로도 감당하기 어려운 경우를 자주 접하게 된다. 그러한 예로, 발암성 혹은 내분비계 장애 등의 위해성을 이유로 '불검출' 기준의 관리 물질들이 점차 증가하고, 심지어 잔류 허용 기준 미 설정 물질들의 경우 불검출 기준으로 인식되고 있는 것을 들 수 있다. 반면, 독성 및 위해성 평가를 바탕으로 한 규제치 설정과 관리 목표와는 별개로 분석을 통한 연구·조사·검사 및 관리현장에서는 정량 가능한 최하한 값의 설정을 어디에 두어야 하는지, 국내외 법규 및 시험법에서 제시한 정량 최하한 값은 어떻게 구한 것인지, 공전 및 공정시험법 등에서 제시한 최하한 값은 분석대상 시료에 실제 적용 가능한 값인지, 최저 정성 하한과 최저 정량 하한값 설정에 대한 국가차원의 공통된 기본 원칙과 기준은 있는 것인지 또 그 적용범위는 맞는지 등 거듭되어 온 다양한 혼란과 해결책 제시의 부재가 분석 분야 종사자들의 오랜 고민이자 숙제라 생각된다. 특히, 국내의 분석기술 개발 연구나 검사 업무 종사자들의 ISO, IUPAC, CODEX Alimentarius, SANCO 등에서 제시한 분석법 검증과, 연관한 국제적 표준·권고사항에 대한 인식은 여전히 부족한 상황이다. 따라서 시험법의 유효성과 시험소의 시험능력을 재현성·반복성 등의 통계적 검증이 아닌 단순 회수율 수준과 정성·정량의 최저 하한 값 설정 수준으로 서로 비교·평가하는 현재의 상황이 지속되는 한, 우리의 분석기술은 연구라는 명목의 틀에서 큰 제약이 없으며, 다양성에 대한 수용성 등이 큰 국내외 학회지의 기고와 발표는 가능할지라도 국제적 공정시험법으로의 인정은 요원하다 판단된다.

최근 멜라민 식품 오염사고 분석 결과의 반복과 부실검사라는 논란의 중심에 신문¹⁾, 인터넷 매체²⁾ 및 TV 토론³⁾에서 '검출한계'가 크게 부각되었으며, 정작 논지의 검출한계는 통상적으로 최저 정량한계를 지칭하는 '정량한계'를 의미하는 것으로, 학계의 용어 정의, 적용, 국제적 조화, 표준화의 부재가 여실 없이 드러나는 좋은 예가 되었다.

1) 조선일보, '멜라민 1 ppm' 검사결과 믿을 수 있나 2008. 10. 1.

2) 화학산업뉴스, 멜라민 부실검사는 검출한계 때문 2008. 10. 2.

3) MBC 100분토론, 확산되는 멜라민 파문, 대책은? 2008. 10. 7.

따라서, 본 장은 다양한 정의의 검출·정량 한계와 관련 용어, 그 적용실태를 살펴봄으로써 기관 간, 학계 및 기타 사용자 간의 국제적 조화와 표준화를 위한 기본적 이해를 위해 돕고자 하였다.

2. 본 론

본 장의 용어와 정의는 국제표준기구 (ISO)와 IUPAC의 최신 용어 및 정의에 기초하였으며, 한글 표기는 최근 한글맞춤법 통일안과 대한화학회의 우리말 표기법에 우선순위를 두고 현대적 감각에 맞게 표현하였고, 굳이 한글로 표현함으로써 오역으로 인한 의미 전달 방지를 위해, 따로 설명이 필요한 부분을 제외 하고 원문 그대로 작성하였다.

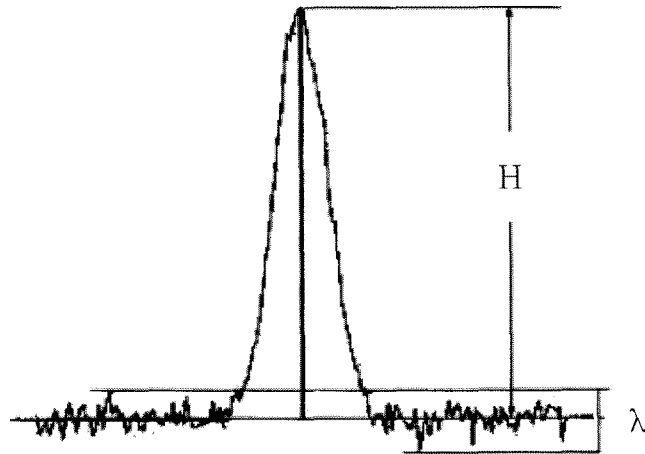
1) Signal to Noise

기기로부터 수집된 noise는 전기적이거나, 화학물질에 의해 생성되는 원치 않는 signal 이다. baseline noise의 경우 분석자가 filtering이나 smoothing을 통해 쉽게 제거할 수 있지만, 분석 대상화합물의 peak 에도 영향을 미치므로 결국 정량에 영향을 미친다. 크로마토그래피에서 주입된 양은 모두 컬럼을 통해 나온다는 가설아래 대부분의 검출기 신호 수집 이후 정량은 peak의 면적 (area)으로 계산하는 것이 보편화 되어있는 반면, noise의 측정은 신호의 세기, 혹은 감도 (sensitivity)로 확인하므로 peak height로 측정 해 왔다. 실제 noise는 잡음처럼, 동적인 측정이 가능하다. noise는 주파수와 peak의 폭에 의해 결정 되는데, 일정치 않은 주파수의 변화가 1 cycle/min 보다 크면 short-term noise, 6-60 cycle/hr 사이면 long-term noise로 분류된다. Noise는 baseline의 위치가 변화되는 drift와는 구별되며, 정량코자 하는 대상 peak 전후의 noise가 주로 정량에 영향을 미치게 된다. Noise는 분석의 방해물질이지만, 단지 방해 물질로만 이해하는 것은 바람직하지 않다. 실제 noise는 용질 내 들어 있는 분석물질의 최소량을 측정할 수 있는 기준이 되기 때문에 매우 중요하며 특히, S/N ratio는 그 자체가 실험오차 (experimental error)의 대상으로서 실험적으로 정량화되며, 정성과 정량의 하한 (limit)을 결정하는 중요한 요소가 된다. 가스크로마토그래피와 액체크로마토그래피는 검출기의 종류에 따라 감도 (sensitivity)별 분류가 가능하다. 검출기의 감응에 따른 감도를 일반적으로, Detector Sensitivity라 하는데, 이는 검출기 내로 유입되는 이동상 내 물질의 단위 질량 혹은 단위 농도 당 신호라 정의하며, 주로 크로마토그래피에서는 peak area로서 mV.min, A.s 또는 AU.min (AU=absorbance unit)의 신호로 적분된 peak 면적을 특정 단위로 전환하여 나타내거나, 단위시간 당 최대 peak 높이에 peak의 절반 높이일 때의 peak 폭을 곱하여 구하며, peak이 정규분포 모양 (Gaussian)이라는 가정 아래서 실제 적분 값의 6%이하여야 한다⁴⁾. Noise와 sensitivity의 계산을 통해, 최저검출능 (minimum detectability)은 아래와 같이 구할 수 있다.

$$D=2N/S \text{ (D: minimum detectability, N: noise, S: sensitivity)}^5)$$

S/N ratio는 정성적 검출과 정량적 검출의 수준을 결정하는 요소이나, 그 측정방법에 있어 국제적인 표준은 없다. 단지 분석의 목적에 따라 규정된 한 예를 그림 1에 나타내었다.

4),5) IUPAC Recommendations (1993), Nomenclature for chromatography, Pure & Appl. Chem., Vol. 65, No. 4, 850



S (signal): Measurement from peak maxima to midpoint of baseline noise

N (noise): Range of background noise (maximum noise minus minimum noise) in the chromatographic region of the component of interest ± 10 times peak width at $1/2$ height

S/N (signal-to-noise ratio): $2H/\lambda$

그림 1. European Pharmacopeia (2005)의 S/N ratio 측정방법

S/N ratio는 분석대상물질의 기기상의 검출한계(instrumental detection limit)를 산출하는 가장 기본적인 요소이다. 과거에는 S/N ratio를 $(S+N)/N$ (S:signal, N: Noise)로 정의한 때도 있었는데, 이는 signal을 noise envelope(noise 포락선 包絡線)의 바닥에서부터 측정한다는 것으로 peak이 없을 때 즉, signal이 0 일 때 ($S=0$) 도 값이 1이 되므로 noise만큼의 peak이 있다는 의미가 된다.

S/N ratio의 측정에 대한 통계적 논리와 원리에 대해 많은 논쟁이 있어 왔지만, 지금은 대부분 S/N ratio를 S/N로서 산출하는 것이 보편화 되어 있다. 일반적으로 S/N ratio가 2 이상이 되면 peak은 육안으로 명확하게 인지될 수 있고, 3 이상이면 정확한 peak 면적의 측정은 안 될 지라도 보다 명확하게 확인이 되는 수준이다. 통계적으로 좋은 noise의 측정은 baseline noise 진폭의 표준편차(σ : standard deviation)의 6배 즉 6σ 인데, 일반적으로 기기상의 검출한계를 언급할 때의 signal은 3σ 이다. 이는 1,000번 측정할 경우의 peak가 997번은 시료로부터 3번은 noise로부터 파생 되는 99.7%의 통계적 확신값을 의미한다.

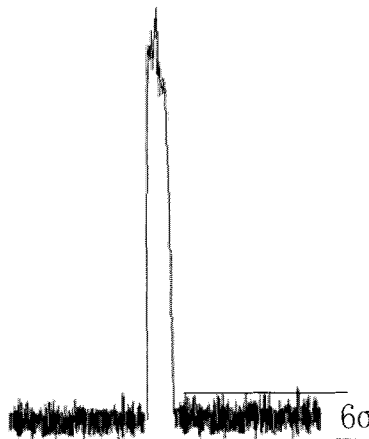


그림 2. Noise 측정의 통계적 접근

2) Smoothing

대부분의 분석 기기는 다양한 검출기(detector)로 부터 수집된 전기적 신호를 수치나 peak 형태의 크로마토그램으로 나타내며, 정성적(qualitative)으로 확인(identification)이 가능할 때 검출(detection), 양적으로 계산이 가능할 때 정량(determination, quantification, quantitation)이라 한다. 일반적으로 대부분의 기기는 그림 3과 같은 복잡한 신호를 smoothing⁶⁾ 기법이라는 통계적 처리를 통해 육안으로 관찰 가능한 기록될 수 있는 신호로 바꾼다. Smoothing은 통계학적으로 일련의 데이터를 변형하여 부드럽게 만드는 과정을 의미하는데, 이는 연속적으로 특이치를 제거 또는 감소시킴으로 행해지며 moving average, least square, mean의 통계기법을 이용한 것이 대표적 예이다.

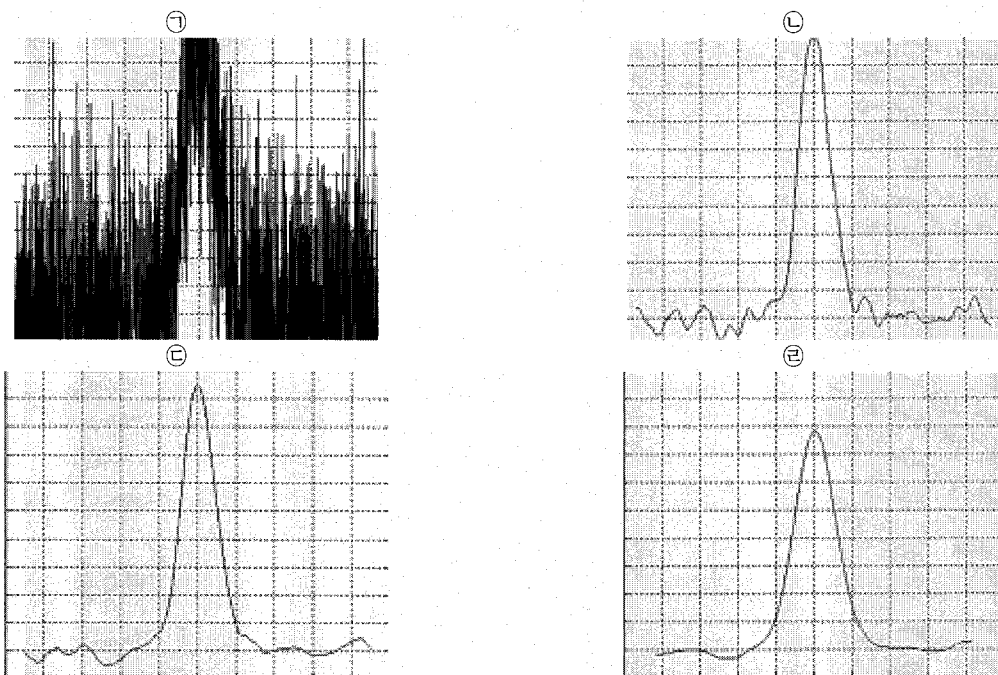


그림 3. 검출신호의 통계기법 처리를 통한 smoothing의 예

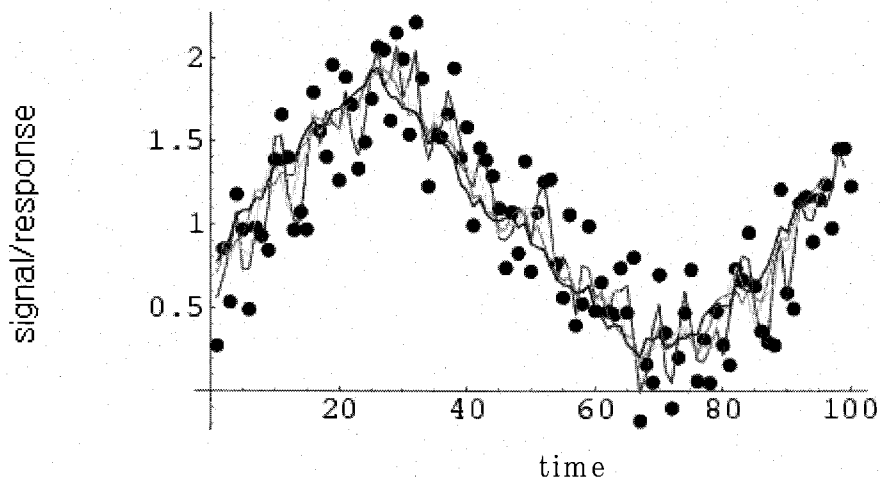


그림 4. Moving average를 이용한 신호의 선형화 과정의 예

6) Smoothing: The modification of a set of data to make it smooth and nearly continuous and remove or diminish outlying points

즉, 그림 3, 4와 같이 시간의 흐름에 따라 신호로 인식되는 각각의 점들을 통계적 처리를 통해 인위적으로 선형화하는 것이 smoothing인데, Abraham Savitzky와 Marcel J. E. Golay는⁷⁾ 1964년 least square 기법을 활용한 smoothing 기법과 Savitzky-Golay Filter를 개발함으로써 moving averages 기법이 지닌 상대적인 최대값, 최저값, 폭의 형태 편평하게 하는 특성을 보완하여 신호에 따라 수집된 원래의 peak 형태가 유지되도록 좀 더 자연스럽게 보완하였다. 분석기기의 활용을 통한 신호의 수집은 분석결과에 큰 영향을 미친다. 즉, 신호대 잡음비(signal to noise ratio; S/N ratio)의 계산을 통한 정성적 검출 수준(qualitative detection level) 결정은 물론, 인위적 peak 조작을 통한 정량값의 변화 등도 초래하므로 분석자는 사용기기 프로그램의 정확한 신호 수집 체계 알고리즘을 이해하고 프로그램을 사용하는 것이 매우 중요하다.

3) LOD and LOQ

(1) 기 원

1968년 Lloyd A. Currie는 'Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination- Application to Radiochemistry' 연구논문을 통해 정성은 'Detection', 정량은 'Determination'이란 용어로 정의하였다.

그는 본 논문에서 분석영역을 크게 세 가지로 나누고, 첫 번째 영역(Region I)을 Unreliable Detection, 두 번째 영역(Region II)을 Detection: Qualitative Analysis, 세 번째 영역(Region III)을 Determination: Quantitative Analysis로 구분하였다.

← Region I →	← Region II →	← Region III →
Unreliable Detection	Detection: Qualitative Analysis	Determination: Quantitative Analysis

그가 내린 정의를 원문대로 인용하면 다음과 같다.

The decision limit is the measured concentration 'at which one may decide whether or not the result of analysis indicates detection',

The detection limit is the true concentration 'at which a given analytical procedure may be relied upon to lead to detection',

The determination limit 'at which a given procedure will be sufficiently precise to yield a satisfactory quantitative estimate'.⁸⁾

아울러, Blank의 정의 또한 매우 중요한데 Currie는 'The blank is defined as the signal

7) Abraham Savitzky (1919-1999), Marcel J. E. Golay (1902-1989)
A. Savitzky and Marcel J.E. Golay (1964). Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. Analytical Chemistry, 36: 1627-1639.

8) Lloyd A. Currie (1968) Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination Application to Radiochemistry' (Analytical Chemistry Vol. 40, No. 3, 586-593)

resulting from a sample which is identical, in principle, to the same of interest, except that the substance sought is absent or small compared to σ_B (Standard deviation). The blank thus includes the effects of interfering species라 하였다.

(2) IUPAC 정의

IUPAC의 정의는 다음과 같다.

Limit of Detection(LD):

Smallest concentration where the analyte can be identified. Commonly defined as the minimum concentration of analyte in the test sample that can be measured with a stated probability that the analyte is present at a concentration above that in the blank sample. IUPAC and ISO have recommended the abbreviation LD.

Limit of Quantitation(LOQ):

Smallest concentration of the analyte that can be quantified. Commonly defined as the minimum concentration of analyte in the test sample that can be determined with acceptable precision (repeatability) and accuracy under the stated conditions of the test.

4) CODEX Alimentarius 정의

국제식품 규격위원회는 식품 중 필수 혹은 독성 물질의 신뢰성 있는 측정을 위해 적용능에 기초한 분석법의 긴급 승인의 이유로 1982년부터 the limit of detection / limit of determination의 문제를 해결코자 노력하였는데, 이후 1990년 IUPAC와 ISO에 이를 공식적으로 요청하였다. 최근의 국제 식품규격위원회의 정의는 다음과 같다.

Detection Limit⁹⁾: The detection limit is conventionally defined as field blank + 3σ , where σ is the standard deviation of the field blank value signal (IUPAC definition). However, an alternative definition which overcomes most of the objections to the above approach (*i.e.* the high variability at the limit of measurement can never be overcome) is to base it on the rounded value of the reproducibility relative standard deviation when it goes out of control (where $3\sigma_R = 100\%$; $\sigma_R = 33\%$, rounded to 50% because of the high variability). Such a value is directly related to the analyte and to the measurement system and is not based on the local measurement system.

Determination Limit: As for detection limit except that 6 or 10 is required rather than 3. However, an alternative definition that corresponds to that proposed for the

9) CODEX Procedural Manual, 17th Edition, 2007

detection limit is to use $\sigma_R=25\%$. This value does not differ much from that assigned to the detection limit because the upper limit of the detection limit merges indistinguishably into the lower limit of the determination limit. (* σ_R : reproducibility)

국제 식품규격위원회의 Detection Limit/Determination Limit의 특성을 요약하면 다음과 같다.

1. Three-tiered concept: critical value, detection limit, determination limit
2. Concept with operational equations for a single laboratory
3. Impossible to compare the detection capabilities of measurement methods using available publications
4. Aims to create a system in which the standard documentation of any measurement method would include a statement of capabilities that were directly comparable to any other method for measuring the same substance
5. Determination limit (1968) → Quantification limit (1995, IUPAC)으로 통일화 필요
6. The ability to quantify is generally expressed in terms of the signal or analyte (true) value that will produce estimates having a specified relative standard deviation (RSD) commonly 10%
7. IUPAC default value: $LQ=10\sigma_Q$ 이므로 CODEX의 6 or 10 σ_Q 도 통일화 필요
8. Quantification limit = $3.04 * \text{detection limit}$ ($\alpha=\beta=0.05$)

5) US EPA 40 CFR Part 136 App. B의 MDL

(1) MDL의 정의

The Method detection limit (MDL) is defined as the minimum concentration of a substance that can be measured and reported with 99% confidence that the analyte concentration is greater than zero and is determined from analysis of a sample in given matrix containing the analyte

$$MDL = t(n-1, 1-\alpha=0.99) \cdot (s)$$

99% t-distribution (n-1), n=7, 3.143

$$LCL = 0.64 \text{ MDL}, UCL = 2.20 \text{ MDL}$$

(the lower and upper 95% confidence limits of the MDL (n=7))

미국은 Constant Error Model인 Currie의 방법에 기초하여, 1981년 Ohio Cincinnati의 미 환경청 환경연구실(Environmental Monitoring and Support Lab.)의 연구원인 John A. Glaser 등에 의해 처음으로 US EPA의 MDL(EPA's Method Detection Limit)의 추정 절차 (Procedure for estimating the MDL)에 착수하고 그 결과를 American Chemical Society에서 발행하는 Environmental Science & Technology Vol. 15, No. 12 (Dec. 1981)에 'Trace analyses for wastewaters'란 제목으로 발표하였다. 그런 후 1984년 10월 EPA의 Clean Water Act(CWA) 프

권진옥

로그래에 이용하기 위해 'Procedure for determining the MDL'을 공표하였다. 이보다 앞서 1979년 Minimum level of quantitation(ML)을 미 환경청 분석방법 624와 625 (Non-Potable Water-Organic Chemistry)의 주석(footnote)에서 제안하였고, 1980-1984년 Method 1624: Volatile Organic Compounds by Isotope Dilution GC/MS; Method 1625: Semivolatile Organic Compounds by Isotope Dilution GC/MS에도 ML을 포함시켰다. 미 환경청은 1984년부터 공식적으로 사용해 온 MDL에 대한 끊임없는 문제점 제기를 해결코자 2002년 8월에 전문가 검토를 시작하고, 수정에 대한 논의사항을 2003년 3월 미국의 Federal Register Vol.68., No.48, 40 CFR Part 136 'Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants; Procedures for Detection and Quantitation'을 통해 제안하였으나, 철회되고 이러한 내용은 2004년 11월 Federal Register를 통해 재 제안 발표하였으나 역시 철회되었다. 무엇보다 우리는 20년 이상 논란의 중심에 있었던 미국의 MDL이 국제적으로 통용되는 것이 아니라, 미국의 CWA Program을 위해 미 환경청과 그 유관기관 내에서 통용되는 것임을 주목해야 한다. 이들 유관기관들은 미국의 National Pollutant Discharge Elimination System(NPDES)을 통해 모니터링, 관리 대상 오염물질 분석 등과 수행하는 Voluntary Consensus Standards Bodies (VCSBs)로서, American Public Health Association(APHA), Water Environment Federation(WEF), American Water Works Association(AWWA), Association of Official Analytical Chemists(AOAC-International), American Society for Testing and Materials (ASTM International) 등이 있다. 아울러 미국 내 기관이지만 US FDA는 MDL을 적용하지 않는 기관이라는 사실에도 주목해야 한다. 한편, US EPA는 2004년 Revised Assessment of Detection and Quantitation Approaches을 통해 MDL의 특징과 제한적인 요소에 대해 다음과 같이 설명하고 있다.

- The MDL concentration does not imply accuracy or precision of the quantitative measurement.
- The USEPA MDL is designed to control against false positives at the 99-percent confidence level in an ideal matrix.

또한, MDL 적용을 통해 규제받는 산업체 단체들은 MDL에 대한 다음의 문제점을 지적하고 있다.

- There are some inconsistencies between the definition and the procedure.
- It does not account explicitly for false negatives.
- It does not always yield a 1% false positive rate.
- It does not sufficiently account for blank bias.
- A prediction or tolerance limit adjustment is not provided.
- It does not account for interlaboratory and temporal intralaboratory variability.
- It allows discretion in the use of the optional iterative procedures.

오랫동안의 논쟁 끝에 2007년 Federal Advisory Committee on Detection and Quantitation Approaches and Uses in Clean Water Act Programs에서는 MDL의 사용에 대해 다음과 같이 결정하였다.

The Committee presented EPA with a number of consensus recommendations and where consensus could not be achieved, summaries of the Committee's discussions or decisions are provided.

These recommendations are intended to help EPA improve the policy and science related to detection and quantitation in Clean Water Act programs, with a focus on the NPDES permitting process.

Due to the fact that these are important issues and the Committee believes the recommendations and decisions could lead to improvements, we urge EPA to seriously consider all of the issues summarized in this report and implement the Committee's recommendations as soon as practical.

US EPA는 용어에 대한 정의를 '분석 대상과 분석목적'에 맞게 합목적적으로 하겠다는 취지를 시사해 왔다. 그러나 이러한 취지의 MDL은 실상 미국 환경청의 규범이자 원칙일 뿐, 타 국가나 국제기구가 '국제 표준'이란 이름으로 기본원칙과 규범으로서 수용하기는 어렵다 판단된다. 특히, 그간 많은 분석화학자, 국내외 공공기관 및 관련 업무 종사자에게 오랫동안 그리고, 여전히 혼돈을 준 이유는 US EPA의 MDL 파생 역사와 목적에 대한 이해가 충분치 않았기 때문이라 판단되며, 우리나라 환경 분석 분야에서 널리 활용되고 있는 MDL 또는 변형된 형태의 MDL도 이러한 차원에서 적극 검토해야 할 것이다.

(2) 동물용 의약품 잔류분석의 새로운 용어와 정의

기존의 농약, 중금속 등 식품 및 환경 중 잔류분석 시 통용되어 온 최저검출/정량한계와는 별개로, 현재 유럽연합국가에서 주로 식품 중 동물용의약품의 잔류분석에만 적용하고 있는 몇 가지 정의를 아래에 나타내었다.

MRPL(minimum required performance limit):

The minimum content of an analyte in a sample that has to be detected and confirmed.

검출되어서는 아니 되는 즉, 불검출 기준(zero-tolerance)의 동물용의약품에 대한 잔류 시험 시 독성값에 바탕을 둔 것이 아닌, 검증된 분석능력에 기준을 두어 설정한 최저 측정수준으로, 종종 최대 잔류허용기준(MRL, maximum residue limit)과 같은 역할을 한다.

예: 최초의 MRPL¹⁰⁾ chloramphenicol의 경우 0.3 µg/kg

10) Official Journal of the European Union, L71 of 13 March 2003, Commission Decision amending Decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin, Brussels, Belgium, 2003.

권진옥

(3) Decision Limit(CCa), Detection capability(CCb)

Decision limit(CCa), Detection capability(CCb)은 limit of detection(LOD)와 limit of quantification(LOQ)의 대체 또는 유사 용어들로 ISO에서 정한 각각의 정의는 다음과 같다.

CCa: the concentration at and above which it can be concluded with an error probability of α that a sample is non-compliant(positive).

CCb: the smallest content of the substance that may be detected, identified and/or quantified in a sample with an error probability of β . In $\beta\%$ of the cases, a non-compliant sample will be classified as compliant, and therefore reveals a false-negative result

한편, 유럽연합(EU Decision 2002 / 657 / EC)에서는 ISO의 정의에 따라 이를 좀더 자세히 아래와 같이 설명하고 있다.

(4) Decision Limit(CCa)

Limit at which it can be decided that the concentration of the analyte present in a sample truly exceeds that limit with an error probability of α (false positive). In the case of substances with zero AL, the CCa is the lowest concentration level, at which a method can discriminate with a statistical probability of $1-\alpha$ whether the identified analyte is present. The CCa is equivalent to the limit of detection(LOD) under some definitions(usually for $\alpha=1\%$).

In the case of substances with an established AL, the CCa is the measured concentration, above which it can be decided with a statistical probability of $1-\alpha$ that the identified analyte content is truly above the AL.

(5) Detection Capability(CCb)

Smallest true concentration of the analyte that may be detected, identified and quantified in a sample with a beta error(false negative). In the case of banned substances the CCb is the lowest concentration at which a method is able to determine the analyte in contaminated samples with a statistical probability of $1-\beta$. In the case of substances with an established MRL, CCb is the concentration at which the method is able to detect samples that exceed this MRL with a statistical probability of $1-\beta$.

When it is applied at the lowest detectable concentration, this parameter is intended to provide equivalent information to the Limit of Quantitation(LOQ), but CCb is always associated with a specified statistical probability of detection, and therefore it is preferred over LOQ.

(6) Decision Limit (CC α)

the lowest concentration level of analyte that can be detected in a sample with a chance of 1% of false positive decision.

(7) Detection Capability (CC β)

the Smallest content of the analyte that can be detected in a sample with a chance of 5% of false negative decision.

특히, 이들 Decision limit (CC α), Detection capability (CC β)은 잔류허용기준 설정 유·무에 따라 다음의 방법으로 산출한다.

1. Substances for permitted limit

A: Fortify negative matrix with analyte

- 1, 1.5 and 2 times the MRPL or
- 0.5, 1.0 and 1.5 times the MRL
- Analyse 6 replicates at each level
- Repeat these steps on at least two other occasions with different operators and different environmental conditions, *e.g.* different batches of reagent, solvents *etc.*, different room temperatures, different instruments, *etc.* if possible
- Analyse the samples
- Calculate the concentration detected in each sample.
- Find the mean concentration, standard deviation and the coefficient of variation(%) of the fortified samples.

B:

CC α is concentration corresponding to: Signal at MRL (MRPL) + 1.64 SD within-laboratory reproducibility

CC β is concentration corresponding to: Signal at CC α + 1.64 SD within-laboratory reproducibility

2. Substances for no permitted limit

A: Based on the linear regression line

$$Y = Mx + B_0$$

- CC α is the corresponding concentration (x) at the y-intercept plus 2.33 times the standard deviation of the within-laboratory reproducibility of the intercept
- Applicable to quantitative assays only

권진옥

$$CC\alpha = (2.33 \text{ SD}) / M$$

$$CC\beta = CC\alpha + (1.64 \text{ SD}) / M$$

B: Based on the Blank analysis

$$CC\alpha = 3 \times (S/N \text{ ratio})$$

- Analysing at least 20 blank materials per matrix to be able to calculate the S/N ratio at the time window in which the analyte is expected
- 3 times the S/N ratio
- Applicable to quantitative and Qualitative assays.

CCβ

- Analysing at least 20 blank materials per matrix fortified with the analyte(s) at the decision limit.

$$CC\alpha = 3 \times (S/N \text{ ratio})$$

$$CC\beta = CC\alpha + (1.64 \text{ SD})$$

6) 의약품 분야의 정의와 활용

ICH¹¹⁾에서는 1994년 인체용의약품 검정 목적의 분석법 검증 가이드라인을 제시한 이후 1996년과 2005년 보완하였는데, 제시한 가이드라인의 Detection limit, Quantitation limit 산출방식은 현재, 미국 FDA에서 약품 뿐만 아니라, Pesticide Analytical Manual(PAM)에서도 그대로 적용하고 있는 방식이며, 우리나라 식품의약품안전청의 '의약품 등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인'은 이를 차용하고 있다.

(1) DETECTION LIMIT¹²⁾

The detection limit of an individual analytical procedure is the lowest amount of analyte in a sample which can be detected but not necessarily quantitated as an exact value. (Approaches other than those listed below may be acceptable)

1. Based on Visual Evaluation
2. Based on Signal-to-Noise (3 or 2:1)
3. Based on the Standard Deviation of the Response and the Slope

11) The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use(ICH)

12) ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1)* (*Current Step 4 version, Parent Guideline dated 27 October 1994(Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005)

$$DL = 3.3 \sigma / S$$

where σ = the standard deviation of the response

S = the slope of the calibration curve

3.1 Based on the Standard Deviation of the Blank

3.2 Based on the Calibration Curve

(2) QUANTITATION LIMIT

The quantitation limit of an individual analytical procedure is the lowest amount of analyte in a sample which can be quantitatively determined with suitable precision and accuracy. The quantitation limit is a parameter of quantitative assays for low levels of compounds in sample matrices, and is used particularly for the determination of impurities and/or degradation products. (Approaches other than those listed below may be acceptable)

1. Based on Visual Evaluation

2. Based on Signal-to-Noise Approach (10:1)

3. Based on the Standard Deviation of the Response and the Slope

The quantitation limit (QL) may be expressed as:

$$QL = 10 \sigma / S$$

where σ = the standard deviation of the response

S = the slope of the calibration curve

3.1 Based on Standard Deviation of the Blank

3.2 Based on the Calibration Curve

7) 식품 및 사료 중 PCDD / PCDFs와 PCBs 분석

국제식품규격위원회는 전술한 CODEX Procedural Manual과는 별개로, 식품 및 사료의 분석 시 활용토록 다음의 권고실행 강령을 제시하고 있다. 주의가 필요한 용어와 그 적용 예로 lower bound (zero), medium bound(half the limit of quantification), upper bounder(limit of quantification)의 계산을 통한 검출농도의 표현인데, 이때 제시된 limit of quantification의 정의는 CODEX Procedural Manual의 정의와 다르게 단순히, S/N ratio에 기초하고 있음을 주목해야 한다. 정확한 유래는 알 수 없지만, 추정컨대 극미량 검출 다이옥신의 위해성으로부터 식품안전성을 확보하기 위해, 또는 환경 내 다이옥신 분석 분야 종사자들의 오랫동안의 분석 결과 판정 및 표현 방식이 국제식품규격위원회의 원칙과 맞지 않지만 그대로 적용된 예로 생각된다. 그런데, 유럽연합과 우리나라의 식품 및 사료 중 잔류허용기준 설정 농도는 극미량이며, 일반적인 정량하한값은 검량선에서 계산이 가능해야 한다는 기본 원칙이 있다. 그럼에도 불구하고, 다이옥신이라는 독성과 극미량 분석, 동위원소희석법이라는 특성 때문에, 분석과정 중 많은 시료량과/또는 적은 희석배율이 아니면 상용 표준품의 최저 농도 주입을 통한 기기상의 검출한계(instrumental detection limit)치로부터 작성된 검량선 내에서 보편적인

권진옥

'정량'이 이루어 질 수 없는 원칙론적인 문제가 있다. 이는, 식품 및 사료 중 극미량의 PCDD/PCDFs와 PCBs 분석은 '검량선내에서 정량 한다'라는 일반적인 원칙을 깨고, S/N ratio에 바탕을 두고 검량선 이하의 값에서 검출농도를 산출해도 무방하며, 데이터는 오차나 불확도 요인이 크지만 인정할 수 있다는 분석법 검증의 기본적 취지와 목적을 흐리게 하는 결과가 된다. 이는 비단 식품 및 사료 뿐 만 아니라 현재 다이옥신류를 분석하는 모든 매체의 근본적인 문제라 판단되며, 분석이라는 큰 틀에서 기본원칙과 조화를 이루기 위한 상식적인 논의가 절실하다.

식품의 국제적인 교역이 점점 더 확대되고, 다이옥신에 의한 오염사고가 지속적으로 발생하지만, 국제적으로나 국내에서 아직까지는 lower bound, medium bound, upper bound의 정의와 적용에 대해 교감(consensus)을 이루지 못하고 있다. 즉, 동일 검출농도에 대한 표현이 다름으로 해서 분석자 간에도 분석결과의 이해를 이끌어 내지 못하고, 국가간에는 분석결과의 신뢰도에 오해를 불러일으키는 경우, 일반인에게는 심리적 위해도 증가 뿐만 아니라 분석기관에 대한 신뢰도 실추의 요인이 될 수 있음도 간과해서는 안 된다. 다음은 국제식품규격위원회의 식품 및 사료 중 Dioxin and Dioxin-like PCB 저감과 방지를 위한 권고사항 강령의 일부이다.

CODE OF PRACTICE FOR THE PREVENTION AND REDUCTION OF DIOXIN AND DIOXIN-LIKE PCB CONTAMINATION IN FOODS AND FEEDS(CAC/RCP 62-2006)

(1) Analytical methods and data reporting

62. Analytical methods should be applied only if they are fit for purpose meeting a minimum of requirements. If nationally-established maximum limits are available, the limit of quantification (LOQ) of the method of analysis should be in the range of one fifth of this level of interest. For control of time trends of background contamination, the limit of quantification of the method of analysis should be clearly below the mean of the present background ranges for the different matrices.

63. Performance of a method of analysis should be demonstrated in the range of the level of interest, e.g. 0.5 x, 1 x and 2 x level of maximum limit with an acceptable coefficient of variation for repeated analysis. The difference between upper bound and lower bound levels (see next para.) should not exceed 20 % for feed and food with a dioxin contamination of about 1 pg WHO-PCDD/PCDF-TEQ/g fat. If needed, another calculation based on fresh weight or dry matter could be considered.

64. Except for bioassay techniques, the results of total dioxin and dioxin-like PCB levels in a given sample should be reported as lower bound, medium bound and upper bound concentration by multiplying each congener by their respective WHO Toxic Equivalency Factor (TEF) and subsequently summing them up to give the total concentration expressed as Toxic Equivalency (TEQ). The three different TEQ values should be generated reflecting assignment of zero (lower bound), half the limit of quantification (medium bound), and limit of quantification (upper bound) values to each non-quantified dioxin and dioxin-like PCB congener.

(2) Annex Glossary of terms(for the purpose of this Code of Practice)

limit of quantification(LOQ) (valid for dioxins and dioxin-like PCBs only):

the limit of quantification of an individual congener is the concentration of an analyte in the extract of a sample which produces an instrumental response at two different ions to be monitored with an S/N (signal/noise) ratio of 3:1 for the less sensitive signal and fulfillment of the basic requirements such as e.g. retention time, isotope ratio according to the determination procedure as described in EPA method 1613 revision B (38, 54).

8) 검량선과 정량

국제식품규격위원회에서는 정량과 검량선과의 관계를 명확히 하기 위해 최저 검량 수준(Lowest Calibrated Level; LCL)을 다음과 같이 정의하고 있으며, 그 범위는 다음과 같다.

9) Lowest Calibrated Level(LCL)

LCL: Lowest concentration of analyte detected and measured in calibration of detection system. It may be expressed as a solution concentration in the test sample or as a mass and must not include the contribution from the blank.

MRL (mg / kg)	LCL (mg / kg)
5 or greater	0.5
0.5 up to 5	0.1 increasing to 0.5 for higher MRLs
0.05 up to 0.5	0.02 increasing to 0.1 for MRLs
Less than 0.05	0.5 x MRL

When the MRL is set at the limit of determination of analytical Method, LCL will also be at this level.

국제식품규격위원회 잔류농약분석의 GLP 가이드라인에서 matrix-matched calibration도 제시하고 있다. 그런데, 아직까지 명확한 최저 검량수준 범위, 표준용액을 이용한 검량선 작성과 비교 시 인정 허용 범위, 최저 정량한계 설정 등에 대한 구체적 가이드라인의 제시가 없음에도 유럽전역에서 널리 이용되고 있는 것은 독특한 현상이다. 아울러, 불확도(uncertainty)의 표현과 관련해서 불확도가 최저 정량하한값 보다 낮을 경우의 인정 문제에 대해서도 향후 논의되어야 할 문제이다.

10) 우리나라 기관의 검출한계 · 정량한계 정의와 적용 예

다음은 우리나라 공공기관에서 정의하고 있는 검출한계와 정량한계의 사례를 요약한 것이다.

권진옥

1. 검출한계

검출한계는 각 분석방법에서 규정하는 조건에서 출력신호를 기록할 때, 잡음신호(noise)의 3배 이상의 신호를 검출한계로 한다(S/N 비 >3). (국립환경연구원고시 제2005-4호(2005. 2), 약취공정시험방법, 국립환경연구원)

2. 검출한계(MDL): 분석대상 표준물질의 기기검출한계 기준으로 수질시료는 2~5배, 토양시료는 20~50배 정도의 농도로 조제하여 크로마토그램의 신호대 잡음비가 2.5가 되는 검출량을 최소검출량으로 한다. (국립환경과학원, 2004, 2004년도 내분비계장애물질 측정분석방법에 대한 워크숍)

$$\text{검출한계} = \text{최소검출량} / \text{시료주입량} \times \text{최종농축량} / \text{시료량}$$

3. 검출한계(ppm) = 최소검출량(ng) x 주입전 시료용액량(ml)/주입량(μl) x 1/시료(g)

(농촌진흥청 농약연구소 정영호, 송병훈, 최주현, 임건재, 김찬섭, 임양빈 (1992) 농약잔류성시험법 (출처원저:Goto Shinko (財)残留農藥研究室 化學部將, Kato Seiya(財) 日本食品分析center 應用試驗部將 昭和 55年 (1980) 残留農藥分析法 (Analytical Methods of Pesticide Residues))

4. 검출한계, Limit of Detection: 특정 식품, 식품첨가물, 농산물 혹은 동물사료 등에 규정된 분석방법에서 확실히 인정될 수 있는 수준이 양적으로 측정되고 입증되어질 수 있는 오염물질이나 잔류농약 등 화학물질의 최저검출 농도를 뜻한다. (식품의약품등 용어집 (1999. 8.), 식품의약품안전청)

$$\text{검출한계(ppm)} = \frac{\text{최소검출량(ng 또는 } \mu\text{g)}}{\text{기주입량}(\mu\text{l})} \times \frac{\text{최종희석부피(ml)}}{\text{시료채취량(g)}}$$

5. 검출한계(Detection Limit): 검출한계(Detection Limit)란 검체 중에 존재하는 분석대상물질의 검출 가능한 최소량을 말하며, 반드시 정량 가능할 필요는 없다.

- 정량한계(Quantitation Limit): 정량한계(Quantitation Limit)란 적절한 정밀성과 정확성을 가진 정량값으로 표현할 수 있는 검체 중 분석대상물질의 최소량을 말한다. 저 함량의 분석대상물질을 함유한 검체의 정량시험이나 특히 불순물, 분해생성물 결정에 사용되는 정량시험의 밸리데이션 파라미터이다. (의약품 등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인(2004) 의약품평가부, 식품의약품안전청)

3. 결 론

분석 분야에서 수없이 많은 논란이 있어 왔고, 지금도 논쟁 중이며 국제적으로도 통일되지 않는 것 중 하나가, 우리말로 '정량한계', '검출한계'일 것이다. 우리말로도 기관이나 사용자마다 그 정의가 달라 서로 무엇을 의미하는 것인지 '설명'하지 않으면 교감할 수 없는 현실은 실로 안타깝다. 특히, 용어의

정의와 적용 문제로 인해 귀중한 식량자원이 ‘검출’이라는 명분하에 폐기되거나, ‘불검출’이라는 이름으로 안전하게 취급받게 되는 현실적인 문제도 왕왕 발생할 수 있다. 따라서 관련 종사자는 분석결과 자체를 넘어 분석자의 분석결과 해석 및 이해, 올바른 전달과 판단도 중요한 요구 사항임을 간과해서는 안 된다.

국제사회는 여전히 검량선의 작성, 회수율의 보정, 불확도의 추정, 결과의 표시 등 분석법의 검증 과정 중 요구되는 검토 내용 뿐만 아니라, 결과에 대한 표기 및 해석방법까지 끊임없이 이견을 제시하고 수정에 수정을 거듭하고 있다. 더욱이 이들 정의와 적용의 변화는 예측 불가능한 경제적인 파급효과를 낳을 수도 있기 때문에 우리는 과학을 넘어 정책적으로도 이러한 변화에 대처해야 할 것이다.

그리고 기존에 사용해 온 관행적인 언어습관이라 할지라도 용어를 정의하는 것은 ‘명확함’과 ‘합의에 의한 통일’이 생명이며, 오랜 세월 동안 혼란을 가져온 용어는 차후 수정을 하더라도 현 단계에서의 정리는 반드시 필요하다. 더불어 용어 정의를 위해 사용된 용어에 대해서도 명확히 해야 할 경우에는 반드시 그 용어에 대한 정의를 내리는 것은 필수적이다. 나아가 적용범위도 구체화함으로써 사용에 따른 혼선 방지는 물론, 통일된 다양한 데이터가 생산될 수 있도록 해야 하며, 이들 데이터가 화학물질의 효과적인 관리 방안 도출을 위한 신뢰성 있는 자료가 될 수 있도록 해야 할 것이다.

참고문헌

- 1) 조선일보, ‘멜라민 1ppm’ 검사결과 믿을 수 있나 2008. 10. 1.
- 2) 화학산업뉴스, 멜라민 부실검사는 검출한계 때문 2008. 10. 2.
- 3) MBC 100분토론, 확산되는 멜라민 파문, 대책은? 2008. 10. 7.
- 4) IUPAC Recommendations (1993), Nomenclature for chromatography, Pure & Appl. Chem, Vol. 65, No. 4, 850
- 5) A. Savitzky and Marcel J.E. Golay (1964). Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. Analytical Chemistry, 36: 1627-1639.
- 6) Lloyd A. Currie (1968) Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination Application to Radiochemistry’ (Analytical Chemistry Vol. 40, No. 3, 586-593)
- 7) CODEX Alimentarius (2007) CODEX Procedural Manual, 17th Edition
- 8) Federal Register, US EPA (March 12, 2007) 40 CFR Part 122, 136, et al. Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act; National Primary Drinking Water Regulations; and National Secondary Drinking Water Regulations; Analysis and Sampling Procedures; Final Rule (EPA 40 CFR Part 136 App. B)
- 9) Official Journal of the European Union, L71 of 13 March 2003, Commission Decision amending Decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin, Brussels, Belgium, 2003.
- 10) The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) (2005) ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1)* (*Current Step 4 version, Parent Guideline dated 27 October 1994 (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005)

권진옥

- 11) CODEX Alimentarius (2006) CODE OF PRACTICE FOR THE PREVENTION AND REDUCTION OF DIOXIN AND DIOXIN-LIKE PCB CONTAMINATION IN FOODS AND FEEDS (CAC/RCP 62-2006)
- 12) J.W., Kwon (2007) Global definition and trend for LOD/LOQ in residue analysis, Korean Society of Pesticide Science(KSPS)'s 10th Anniversary Internal Symposium on Pesticide; Workshop for Internal Harmonization of Analyzed Data on Pesticide Residue, The Korean Study Group on Pesticide Residue, KSPS
- 13s) ISO Publications
 - ISO11843-1:1997, Capability of detection--Part 1:Terms and definitions
 - ISO11843-2:2000, Capability of detection--Part 2:Methodology in the linear calibration case
 - ISO11843-3:2003, Capability of detection--Part 3:Methodology for determination of the critical value for the response variable when no calibration data are used
 - ISO11843-4:2003, Capability of detection--Part 4:Methodology for comparing the minimum detectable value with a given value